



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**Letícia Adélia Miotto**

**COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *ENTEROCOCCUS SP* EM OSTRAS E  
AGUAS SALINAS UTILIZADAS PARA CULTIVO DE MOLUSCOS  
BIVALVES DA BAIA SUL DA ILHA DE SANTA CATARINA-BRASIL**

**Florianópolis – SC**

**2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *ENTEROCOCCUS SP* EM OSTRAS E  
AGUAS SALINAS UTILIZADAS PARA CULTIVO DE MOLUSCOS  
BIVALVES DA BAIA SUL DA ILHA DE SANTA CATARINA-BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Dra. Cleide Rosana Werneck Vieira

**Letícia Adélia Miotto**

**Florianópolis – SC**

**2009**

**COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *ENTEROCOCCUS SP* EM OSTRAS E  
AGUAS SALINAS UTILIZADAS PARA CULTIVO DE MOLUSCOS  
BIVALVES DA BAIA SUL DA ILHA DE SANTA CATARINA-BRASIL**

**Por**

**LETICIA ADELIA MIOTTO**

**Dissertação aprovada como requisito para obtenção do título de Mestre no  
Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos, pela comissão formada  
por:**

**Presidente** \_\_\_\_\_  
**Dra. Cleide Rosana Werneck Vieira (UFSC)**

**Membro** \_\_\_\_\_  
**Dr. Felipe Matarazzo Suplicy (MEAP-PR)**

**Membro** \_\_\_\_\_  
**Dr. Matias Alberto Schramm (UNIVALI)**

**Membro** \_\_\_\_\_  
**Dr. Luiz Henrique Beirão (UFSC)**

*Aos meus pais, Milvo e Joana Raquel  
Seleme Miotto, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao **CNPq**, pelo financiamento deste projeto e da minha bolsa de estudos;

A Professora **Dra. Cleide Rosana Werneck Vieira**, pela orientação e pelas oportunidades oferecidas durante o curso;

Ao Prof.**Dr.Paulo Ogliari**, pelas ajudas com as análises estatísticas;

A **CIRAM-EPAGRI**, pelo fornecimento dos dados pluviométricos;

Ao Secretario do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos UFSC/CCA/CAL, meu amigo **Sergião**;

Ao **Nelson Silveira Jr.**, grande conhecedor e estudioso da Baía Sul, pelo tempo e esforço dedicados para a realização deste trabalho, pelas dúvidas esclarecidas;

A **Roberta Juliana Ramos**, pela experiência passada, pelo que aprendemos juntas, pelas horas incontáveis trabalhando com tantas ostras e tantas águas nas bancadas da Micro;

A **Marília Miotto**, pela grande irmandade dentro e fora do laboratório, pela responsabilidade com que abraçou tudo isso;

Ao **Luiz Fernando Bleyer de Faria**, pelas gargalhadas diárias, pelas coletas das amostras sob as mais variadas condições meteorológicas;

A **Helen Silvestre, Andreia Cirolini e Sheila Silveira**, pela convivência, pela amizade, pela ajuda nas horas trabalhosas e apuradas, pelo apoio, pelas idéias, pelos palpites, pelo clima sempre descontraído;

A estagiária **Andressa Bassegio** e as monitoras **Carolina, Isabela, Giovanna, Monique e Rosana** pela cooperação e por ter contado tantas vezes com vocês;

A querida e atenciosa **Cléo**, pelos inúmeros galhos quebrados, pela grande contribuição que veio de diversas formas; ao **Pedro Fuchs**, pelas dúvidas esclarecidas; as **meninas da extensão** pela compreensão em trocar informações e meios de cultura. A **Sabrina de Bona Sartor**, pela amizade desde os tempos da faculdade, que ainda seguimos juntas pelos corredores do CAL.

Obrigada, Tios **Gildo e Rosane Seleme da Silva**, por participarem tanto das nossas vidas, por serem uma referência para mim.

Obrigada, **Maria Cecília Miotto**, por ser irmã e amiga; vocês duas fazem parte de tudo;

Obrigada, **Pai e Mãe**, pelo amor que incentiva e não mede esforços.

**Agradeço, por fim, à divindade que existe em todas as coisas**

**MIOTTO, L.A. Coliformes termotolerantes e *Enterococcus* sp em ostras e águas salinas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Santa Catarina - Brasil. 2009. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.**

## **RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo pesquisar a incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal em 12 diferentes áreas cultivos de moluscos bivalves situados na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. Foram realizados ensaios microbiológicos para contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos, e avaliação da influencia de parâmetros físico-químicos em amostras de ostras e de águas utilizadas para cultivo de moluscos. Avaliou-se também as águas dos principais rios e riachos que desembocam próximos as áreas de cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul, tanto no lado Insular como no lado Continental, através de contagens das mesmas bactérias indicadoras utilizadas para avaliação das águas salinas. Utilizando-se o Sistema API 20 STREP, identificou-se espécies de *Enterococcus* sp isoladas das amostras de águas analisadas e determinou-se o perfil de resistência destas espécies aos principais antibióticos de uso clínico. Observou-se correlação estatística significativa a 5% entre as contagens de *E. coli* nas águas utilizadas para cultivo de moluscos e na carne das ostras; enterococos, coliformes termotolerantes e *E. coli* apresentaram correlação estatística significativa a 5% nas amostras de água analisadas; ocorreu uma maior sensibilidade na detecção de coliformes termotolerantes do que enterococos nas águas salinas, a salinidade foi o parâmetro físico-químico que mais esteve correlacionado com as contagens das bactérias; o acumulado pluviométrico do mês e da semana anterior a coleta teve influência sob as contagens médias das bactérias nas águas salinas; e sobre as contagens de *E. coli* nas amostras de ostras; *Enterococcus faecium* foi a espécie mais encontrada dentre as colônias de *Enterococcus* sp identificadas, tanto nas águas salinas da Baía Sul, quanto nas águas dos rios e córregos analisados.

Palavras-chave: enterococos, coliformes, moluscos bivalves, Baía Sul.

**MIOTTO, L.A. Termotolerant coliforms and *Enterococcus* sp in oysters and seawater samples used for the cultivation of bivalve molluscs from Baia Sul at Santa Catarina's Island, Santa Catarina - Brazil. 2009. 106p. Dissertation (Master in Food Science). Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina – Brazil.**

## **ABSTRACT**

This study aimed to investigate the incidence of fecal indicator bacteria in 12 different sites of cultivation of bivalve molluscs, situated at Baia Sul (Santa Catarina's Island). Assays were performed for microbiological counts of termotolerant coliform, *E. coli* and enterococci, and evaluation of the influence of physico-chemical parameters in samples of oysters and water used for cultivation of shellfish. We also evaluated the waters of the main rivers and streams that empty into nearby areas of cultivation of molluscs in the Baia Sul, both on the Island and on the Mainland, through scores of these indicator bacteria used for the evaluation of saline water. Using the System API 20 STREP identified species of *Enterococcus* sp isolated from water samples analyzed and determined the resistance profile of these species to the major antibiotics in clinical use. There was a statistically significant correlation at 5% between the counts of *E. coli* in the water used for cultivation of shellfish and meat of oysters; enterococci, fecal coliform and *E. coli* correlated statistically significant to 5% in water samples analyzed, there was a greater sensitivity in the detection of coliforms enterococci than in saline water, salinity was the physical-chemical parameter that was most correlated with the bacteria counts, the accumulated rainfall of the month and the week before the collection had an influence on the mean counts of bacteria in saline waters, and on counts of *E. coli* in samples of oysters, *Enterococcus faecium* is the species most commonly found among the colonies of *Enterococcus* sp identified in both the saline waters of the Baia Sul and the waters of rivers and streams analyzed.

Keywords: enterococci, coliforms, molluscs, Baia Sul



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- A área da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina. Fonte GAPLAN, 1986.....	pag. 20
Figura 2 - Numero de surtos de doenças alimentares transmitidas por frutos do mar em Nova York, 1980-1994. Fonte: WALLACE, et al., 1999.....	pag. 25
Figura 3 - A Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.....	pag. 37
Figura 4 - Pontos de coleta nas seis diferentes regiões da Baía Sul Parte Insular.....	pag. 38
Figura 5 - Pontos de coleta nas seis diferentes regiões da Baía Sul Parte Continental marcados em cor amarela.....	pag. 38
Figura 6 - Acumulado pluviométrico mensal na região da Grande Florianópolis durante o período de estudo.....	pag. 56
Figura 7- Acumulado pluviométrico da semana anterior as coletas na região da Grande Florianópolis durante o período de estudo.....	pag. 56
Figura 8- Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes nas águas da porção insular da Baía Sul e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.....	pag. 60
Figura 9- Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes na região de cultivo Aririu e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.....	pag. 63
Figura 10- Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes na região de cultivo Ponta de Baixo e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.....	pag. 64
Figura 11 - Correlação bivariada entre as contagens medias de enterococos nas águas da porção insular da Baía Sul e o acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta.....	pag. 72
Figura 12 - Correlação bivariada entre as contagens de enterococos e as contagens de coliformes termotolerantes nas águas dos seis diferentes pontos de cultivo analisados na porção insular da Baía Sul.....	pag. 73
Figura 13- Correlação bivariada entre as contagens de enterococos e as contagens de E. coli nas águas dos seis diferentes pontos de cultivo analisados na porção insular da Baía Sul.....	pag. 73
Figura 14- Incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal nas seis diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.....	pag. 74
Figura 15- Incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal nas seis diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, em Numero Mais Provável/100mL.....	pag. 77
Figura 16 - Área da Baía sul mostrando os canais norte e sul.....	pag. 78
Figura 17- Porcentagem de identificação das espécies de bactérias pertencentes ao gênero Enterococos provenientes das águas da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina durante o	

estudo.....	pag. 79
Figura 18- Rio Alto Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr.....	pag. 86
Figura 19- Ponto de deságüe 6, localizado na Freguesia do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr.....	pag. 86
Figura 20- Ponto de deságüe 7, localizado na Freguesia do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr.....	pag. 87
Figura 21- Ponto de deságüe 11, localizado na Costeira do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr.....	pag. 87
Figura 22- Rio Cambirela em período de maré baixa (esquerda) e maré alta (direita). Foto Nelson Silveira-Jr.....	pag. 89
Figura 23- Ocupação das margens do Rio Maruim (Foto Nelson Silveira-Jr).....	pag. 91
Figura 24- Porcentagem de identificação das espécies de bactérias pertencentes ao gênero Enterococos provenientes dos pontos de deságüe de águas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina durante o estudo.....	pag. 93

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coordenadas geográficas dos pontos de coleta de amostras.....	pag. 39
Tabela 2- Datas das coletas de amostras no lado Insular da Baía Sul e as análises microbiológicas realizadas.....	pag. 41
Tabela 3- Datas das coletas de amostras no lado Continental da Baía Sul e as análises microbiológicas realizadas.....	pag. 42
Tabela 4- Coordenadas geográficas das estações de coleta de amostras de água provenientes de rios e deságües da Baía Sul.....	pag. 49
Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das amostras analisadas nas 6 diferentes regiões geográficas analisadas no lado insular da Baía Sul.....	pag. 53
Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das 6 diferentes regiões geográficas analisadas no lado continental da Baía Sul.....	pag. 54
Tabela 7- Média geométrica e percentil 90% das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras de ostras das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por grama.....	pag. 57
Tabela 8- Média geométrica e percentil 90% das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras de águas salinas das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL.....	pag. 59
Tabela 9 - Média geométrica e percentil 90 das contagens de coliformes termotolerantes das amostras de águas salinas nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL.....	pag. 62
Tabela 10- Média geométrica e percentil 90 das contagens de E.coli nas amostras de ostra das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por grama.....	pag. 66
Tabela 11- Ocorrência de E. coli em amostras de água utilizadas para cultivo de moluscos bivalves provenientes da porção insular da Baía Sul.....	pag. 67
Tabela 12- Média geométrica e percentil 90 das contagens de E.coli nas amostras de água das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL.....	pag. 68
Tabela 13- Ocorrência de E. coli em amostras de água utilizadas para cultivo de moluscos bivalves provenientes da porção continental da Baía Sul.....	pag. 69
Tabela 14- Média geométrica e percentil 90 das contagens de e.coli nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL.....	pag. 70
Tabela 15- Média geométrica e percentil 90 das contagens de enterococos nas diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL.....	pag. 71

Tabela 16- Media geométrica e percentil 90 das contagens de enterococos nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Numero Mais Provavel (NMP) por 100mL.....	pag. 75
Tabela 17 - Correlação (r) entre as contagens de enterococos versus coliformes termotolerantes e enterococos versus E.coli em regiões de cultivo de moluscos bivalves da porção continental da Baía Sul.....	pag. 76
Tabela 18 – Espécies de enterococos identificadas nas seis diferentes regiões de cultivo da Baía Sul lado insular.....	pag. 80
Tabela 19 – Espécies de enterococos identificadas nas seis diferentes regiões de cultivo da Baía Sul lado continental.....	pag. 81
Tabela 20- Padrão de resistência a antibióticos das colônias de enterococcus sp. isoladas das águas da Baía sul da Ilha de Santa Catarina.....	pag. 83
Tabela 21- Contagem media de coliformes termotolerantes, E. coli e enterococos em NMP/100mL nos 14 diferentes pontos de deságües de água na porção insular da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.....	pag. 85
Tabela 22 - Contagem media de coliformes termotolerantes, E. coli e enterococos em Numero Mais Provável/100 mL nos principais tributários de água da porção continental da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina nos meses de maio, junho e julho de 2009.....	pag.89

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1	Objetivo geral.....	16
2.1	Objetivos específicos.....	16
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>18</b>
3.1	A atividade da maricultura em Santa Catarina.....	18
3.2	A Baía sul da ilha de Santa Catarina .....	19
3.3	Segurança alimentar e consumo de moluscos bivalves.....	21
3.4	Consumo de moluscos bivalves e surtos de doenças transmitidas por alimentos.....	22
3.5	Controle higiênico-sanitário de moluscos bivalves.....	24
3.6	Bactérias indicadoras de contaminação fecal.....	27
3.6.1	Coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> .....	30
3.6.2	Enterococos.....	33
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E METODOS.....</b>	<b>37</b>
4.1	Área de estudo.....	37
4.2	Coleta de amostras.....	40
4.3	Parâmetros físico-químicos.....	42
4.4	Preparo e diluições das amostras.....	43
4.5	Determinação do pH da carne das ostras.....	43
4.6	Acumulado Pluviométrico.....	43
4.7	Ensaio microbiológicos.....	44
4.7.1	Coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> .....	44
4.7.2	Enterococos.....	46
4.8	Identificação taxonômica das colônias de enterococos.....	46
4.9	Teste de sensibilidade das colônias isoladas e caracterizadas de enterococos a diferentes antimicrobianos de importância clínica.....	47
4.10	Avaliação da qualidade microbiológica dos principais rios e riachos que deságuam próximos as áreas de cultivo na Baía Sul.....	47
4.11	Análise estatística dos dados.....	49
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
5.1	Parâmetros físico-químicos.....	51
5.2	Acumulado pluviométrico.....	55

5.3	Ensaio microbiológico.....	56
5.3.1	Coliformes termotolerantes.....	56
5.3.2	<i>Escherichia coli</i> .....	65
5.3.3	Enterococos.....	70
5.4	Identificação taxonômica das colônias de enterococos.....	78
5.5	Teste de sensibilidade das colônias isoladas e caracterizadas de enterococos a diferentes antimicrobianos de importância clínica.....	82
5.6	Avaliação da qualidade microbiológica dos principais rios e riachos que deságuam próximos as áreas de cultivo na Baía Sul.....	84
6.	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>94</b>
7.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>95</b>

## **1. Introdução**

O consumo de moluscos bivalves tem aumentado consideravelmente no mundo inteiro nas últimas três décadas. Juntamente com essa tendência, surtos de doenças associadas ao consumo de moluscos bivalves têm sido cada vez mais relatados em todos os continentes. A maioria desses surtos está principalmente relacionada à ingestão do alimento cru, sendo que ostras são as espécies mais envolvidas. (POTASMAN et al., 2002).

Devido ao hábito alimentar baseado na filtração de material orgânico em suspensão na água, os moluscos bivalves podem assimilar não apenas o fitoplâncton que compõem o seu principal alimento, mas também pesticidas, metais pesados, biotoxinas e microrganismos patogênicos, constituindo, portanto, sérios riscos à saúde pública. Deste modo, a microbiota presente na carne dos moluscos bivalves está diretamente relacionada com a qualidade do ambiente em que estes se originam (NAVARRO, 2002; SAPKOTA et al., 2008).

Assim sendo, é de grande importância o conhecimento da qualidade da água no local onde ocorre produção e coleta de diferentes espécies de moluscos bivalves destinados ao consumo humano. Tendo em vista minimizar os riscos para a saúde pública, a qualidade microbiológica das águas torna-se um fator fundamental para que estes possam ser comercializados com total segurança para o consumidor (LIPP et al., 2001; LENOCH, 2004).

No Brasil e outros países há leis que ordenam sobre a deliberação de áreas próprias ou impróprias para o cultivo de moluscos marinhos e sobre o estado sanitário da produção aquícola para comercialização. Os problemas que advêm do cultivo de moluscos bivalves em áreas poluídas são muito prejudiciais à saúde pública. A poluição tem sua origem no deságüe de dejetos domésticos, industriais e pesticidas agrícolas. As águas contaminadas por fezes humanas e de animais de sangue quente podem disseminar fácil e rapidamente, através dos moluscos cultivados, um grande número de enfermidades, principalmente gastroenterites. A seleção ou controle de áreas de cultivo

é feito mediante contagem de coliformes fecais e *Escherichia coli* presentes nas amostras de água (LENOCH, 2004; CONAMA, 2005).

A Baía Sul encontra-se como sendo a maior região produtora de moluscos do Brasil. O lançamento de volumes consideráveis de esgoto doméstico sem tratamento, assim como a drenagem de águas superficiais nela lançada pode afetar a qualidade de suas águas e dos animais aquáticos, constituindo-se em importante problema para o meio ambiente e para a saúde pública (SOUZA FILHO, 2003).

Desse modo, este trabalho visa pesquisar a incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal em áreas de cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul de Santa Catarina – Brasil.



## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Este trabalho teve como objetivo pesquisar a incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal nas áreas onde se concentram os maiores números de cultivos de moluscos bivalves na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina – Brasil.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Pesquisar, através de ensaios microbiológicos, a incidência de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e enterococos em amostras de águas onde são cultivados moluscos bivalves em 12 diferentes regiões de cultivo na Baía Sul; sendo seis situadas na porção insular e outras seis na porção continental da Baía;

- Monitorar, através de ensaios microbiológicos, a incidência de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em amostras de carnes de ostras provenientes de 6 diferentes regiões de cultivo da porção insular na Baía Sul;

- Verificar a existência de correlação entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* nas amostras de carne das ostras e nas águas utilizadas para cultivo;

- Comparar a incidência das bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes e enterococos em águas salinas;

- Determinar as características físico-químicas de temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e transparência das águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul;

- Verificar a existência de correlação entre os parâmetros físico-químicos das águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves e os níveis de contaminação por bactérias indicadoras;

- Acompanhar o índice pluviométrico na região da Grande Florianópolis, a fim de verificar a relação entre este índice e os níveis de contaminação das ostras e águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul;

- Avaliar a qualidade microbiológica dos principais rios e riachos que desembocam próximos as áreas de cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul, tanto no lado Insular como no lado Continental, comparando estes dados com os seus respectivos parâmetros físico-químicos;

- Identificar espécies de enterococos isoladas das amostras de águas analisadas;

- Determinar o perfil de resistência de espécies identificadas de enterococos (provenientes das águas salinas) aos principais antibióticos de uso clínico.

### **3.0 Revisão Bibliográfica**

#### **3.1 A Atividade da Maricultura em Santa Catarina**

A maricultura, que envolve o cultivo de moluscos, algas, camarões, crustáceos e peixes, é uma atividade que tem adquirido importância em diversos países de vasto litoral como fornecedora de proteína animal. Isso se dá em decorrência dos baixos custos de produção e pelo fato de proporcionar uma rentabilidade satisfatória. Dentre estes países, ocupam posição de destaque a China, Espanha, Nova Zelândia, Chile, Japão, Coreia, Itália e o Brasil (SOUZA-FILHO, 2003; FAO 2008).

No Brasil, no âmbito da maricultura, o cultivo de moluscos marinhos (malacocultura) possui maior representatividade através da produção de ostras e mexilhões. Os principais estados produtores são: São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Santa Catarina. Este último é responsável por mais de 90% da produção brasileira de ostras e mexilhões cultivados, devido a condições oceanográficas favoráveis ao cultivo (SOUZA-FILHO, 2003).

A região produtora do Estado de Santa Catarina é compreendida por 12 municípios, inseridos na faixa costeira que se estende de São Francisco do Sul, norte do estado, a Palhoça, na região centro-leste. O município de Florianópolis é o maior produtor de ostras (*Crassostrea gigas*) de Santa Catarina e, por conseguinte, do Brasil. Na safra 2006 foi responsável pela produção de 51,26% do total de ostras produzido em todo Estado, sendo que a Baía Sul responde por cerca de 88% do total produzido em Florianópolis, estando a maioria destes cultivos localizados no distrito do Ribeirão da Ilha (OLIVEIRA NETO, 2007).

Em 2007, a produção total de moluscos comercializados em Santa Catarina (mexilhões, ostras e vieiras) foi da ordem 11.294,78 toneladas, representando uma queda da ordem de 23,47% em relação a 2006. Embora a queda significativa da produção comercializada de ostras em 2007 de 63,33% com relação a 2006, este índice pouco influenciou no volume total da produção por participar com apenas 10,23% da produção estadual (OLIVEIRA NETO, 2009).

Os cultivos de moluscos bivalves em Santa Catarina são realizados próximos a costa, em baías e enseadas abrigadas, com alta concentração de matéria total particulada, fundo areno-lodoso, profundidade de 3 a 10 m, temperatura de 16°-30°C e salinidade de 30 a 36‰. Devido às características dos ambientes atuais de cultivo, às espécies e ao padrão artesanal dos produtores, utilizam-se principalmente os sistemas de cultivo do tipo suspenso fixo do tipo “varal”, sistema flutuante do tipo espinhel ou *long-line* e sistema flutuante do tipo balsa (SUPLICY et al., 2003; FERREIRA & MAGALHÃES, 2004).

Trata-se de uma atividade que forma uma cadeia produtiva geradora de trabalho, renda, emprego e impostos que é, para alguns municípios, a principal em importância econômica. Isso tem possibilitado a integração entre cultivo, turismo e gastronomia que revitalizou algumas localidades e criou marcos de identificação como “Ostra de Florianópolis”, atualmente aprovada como selo de origem (FERREIRA & OLIVEIRA-NETO, 2007).

### **3.2 A Baía Sul da Ilha de Santa Catarina**

O Estado de Santa Catarina possui cerca de 561 Km de linha de costa. Sua zona costeira é constituída por 13 municípios, distribuídos em sete bacias hidrográficas. A Ilha de Santa Catarina situa-se entre as latitudes 27° 22'S e 27° 50'S. Possui uma área de aproximadamente 410 Km<sup>2</sup>, onde se localiza a maior parte da cidade de Florianópolis, capital do Estado.

A ilha separa-se do continente por um estreito canal de 21 m de profundidade máxima, e de cerca de 550m de largura, cujos prolongamentos dão forma a duas baías denominadas Baía Norte e Sul (CECA/FNMA 1996).

A Baía Sul (figura 1) constitui uma importante feição costeira no litoral do Estado de Santa Catarina e os municípios circunvizinhos Florianópolis, São José e Palhoça estão entre os mais populosos do Estado. Possui cerca de 25 Km de comprimento médio (máxima de 27Km) e 6,8 Km de largura média (máxima de 10,8Km e mínima de 3Km). Com uma área total de aproximadamente 125 Km<sup>2</sup>,

engloba no seu entorno cerca de 100 Km de linha de costa. Sua comunicação com mar aberto é feita pelo canal sul que possui cerca de 830m de largura e 30m de profundidade. A partir deste canal a baía se alarga, apresentando contornos irregulares, caracterizando a presença de várias enseadas. O interior da baía apresenta um fundo relativamente plano ocorrendo os maiores valores de profundidade na parte central deste sistema com 5 m em média (SILVA, 2002).



**Figura 1- A área da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina. Fonte GAPLAN, 1986.**

Na área da Baía Sul encontram-se manguezais, uma reserva extrativista marinha, enseadas e um grande número de ilhas e praias. É utilizada em atividades de lazer, turismo, pesca, criação e comercialização de moluscos, ou seja, como fonte de alimento e de geração de renda para uma parcela significativa da população local (MORELLI et al., 2005).

### **3.3 Segurança alimentar e consumo de moluscos bivalves**

Segurança alimentar tem sido o tema central de algumas recentes mudanças políticas, do aumento da sensibilização da população, e de vários incidentes envolvendo

a saúde pública. Esses fatos indicam que existe a necessidade de um sistema que possa identificar os riscos à segurança dos alimentos na fase inicial da produção, para que possam ser resolvidos em tempo útil, antes de evoluírem para um perigo real. Esses riscos só podem ser eliminados por meio da introdução de programas de boas práticas nos locais de produção, assim como a emissão e vigilância de normas e regulamentos por parte das autoridades competentes (MARTINEZ & RODRIGUES, 2003; KLETER & MARVIN, 2009).

Em relação a alimentos provenientes da aquicultura, as questões relacionadas à segurança alimentar variam muito entre as localizações geográficas dos cultivos, diferentes habitats; de acordo com o método de produção, práticas de manejo, condições ambientais e procedimentos pós-captura. O estado microbiológico deste tipo de alimento após a captura está intimamente relacionado à qualidade microbiológica da água, que é influenciada, também, por vários fatores como: temperatura, salinidade, distância entre local de cultivo e áreas poluídas com material fecal (próximas a costa, descarga de esgotos, rios) ou à ocorrência natural de bactérias na água (FELDHUSEN, 2000, ICMSF, 2005).

Garantir a segurança alimentar de produtos marinhos, especialmente de moluscos bivalves, que são tradicionalmente consumidos crus, tem seus desafios particulares. Moluscos bivalves são organismos filtradores, que obtêm sua nutrição filtrando grande quantidade de água por dia, e esse comportamento pode levar a concentração de microrganismos patogênicos em grandes quantidades nos seus tecidos. As ostras, por exemplo, podem concentrar coliformes fecais provenientes do ambiente marítimo em concentrações de até quatro vezes maior do que as das águas ao redor delas. Esta acumulação seletiva pode ser sazonal e paralela à acumulação de outras bactérias e vírus patogênicos (BURKHART & CALCI, 2000; TEPLITSKI et al., 2009). Devido a isto, a qualidade sanitária da água onde esses animais são retirados é o ponto chave para a obtenção de um produto com uma boa qualidade microbiológica (JAY, 2005).

Segundo revisão de FRERK FELDUNSEN (2000), os perigos potenciais relacionados a doenças transmitidas por alimentos de origem marinha variam de acordo com diferentes fatores e incluem: infecções por trematódeos, florações de algas marinhas tóxicas, doenças associadas a bactérias patogênicas e vírus, resíduos de

medicamentos de uso veterinário, contaminação por agrotóxicos e metais pesados. As bactérias de relevância para a saúde pública em pescados podem ser divididas em três grupos:

a) Bactérias que ocorrem naturalmente no ambiente marinho, como *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*

b) Bactérias presentes como resultado de contaminação fecal humana e de animais de sangue quente, como *Salmonella* spp, *Escherichia coli* patogênica, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp,

c) Bactérias introduzidas durante manuseio pós-captura ou processamento: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*.

Bactérias patogênicas como *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *Salmonella* Entérica, *Aeromonas* spp e *Plesiomonas* spp têm sido frequentemente isoladas de moluscos comercializados vivos e *V. parahaemolyticus* tem emergido como a maior causa de surtos de doenças relacionadas ao consumo de moluscos bivalves ao redor do mundo (TEPLITSKI et al., 2009).

Estima-se que o consumo de 1 em cada 2000 carnes de moluscos crus resultem em doenças intestinais ou extra-intestinais, tornando este alimento um dos mais perigosos de serem consumidos (MARINO et al., 2005).

### **3.4 Consumo de moluscos bivalves e surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs)**

A aquicultura é uma importante fonte de proteína animal em varias regiões do mundo. De acordo com as estatísticas da FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations) 2008, a oferta de pescado para a alimentação humana aumentou de 27,6 milhões de toneladas, em 1961, para mais de 93 milhões de toneladas até o final do século 20. O consumo médio aparente aumentou cerca de 9 Kg per capita/ano no começo dos anos 60, para cerca de 16 Kg em 1997, com tendência de aumento.

Embora constituam um suprimento de proteína de alta qualidade muito apreciado, os pescados podem acarretar problemas de saúde pública por serem preferencialmente cultivados em áreas costeiras, que são muito mais susceptíveis a contaminação por agentes químicos e biológicos do que os ecossistemas de mar aberto, e agravados pelo hábito tradicional de consumo cru e *in natura* de determinados espécies de produtos marinhos (HUSS et al., 2000; JAY, 2005).

A verdadeira incidência de doenças transmitidas por alimentos não é conhecida. Alguns poucos países têm estabelecido sistemas de registros dos casos destas doenças, e naqueles que têm, apenas uma pequena fração dos casos é documentada. Segundo a WHO e outros órgãos que registram incidência de casos de doenças relacionadas a alimentos, o que se tem registrado até hoje, não atinge nem 1% da verdadeira incidência (HUSS et al., 2000).

Em países onde o consumo de alimentos de origem marinha é maior, e estes são principalmente ingeridos crus, a maior porcentagem de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) é devido ao consumo de pescados, principalmente o de moluscos. Na Austrália, por exemplo, das doenças associadas à alimentação, 20% são devido à ingestão de frutos do mar, e no Japão, os casos ultrapassam 70% (SCOGING, 2003).

Em pesquisa realizada por WALACE e colaboradores (1999) no estado de Nova York (EUA), durante 15 anos de estudos (1980 – 1994) foram reportados 339 surtos de doenças relacionadas ao consumo de pescado, resultando em 3959 casos de doenças, 76 hospitalizações e 4 mortes. Durante este período, os surtos de doenças transmitidas por pescados contribuíram para 19% dos casos de surtos de DTA e 10% dos casos de doença isolada. Moluscos bivalves foram o produto mais implicado nos casos, representando 64% dos casos surtos de infecções relacionadas ao consumo de produtos marinhos.

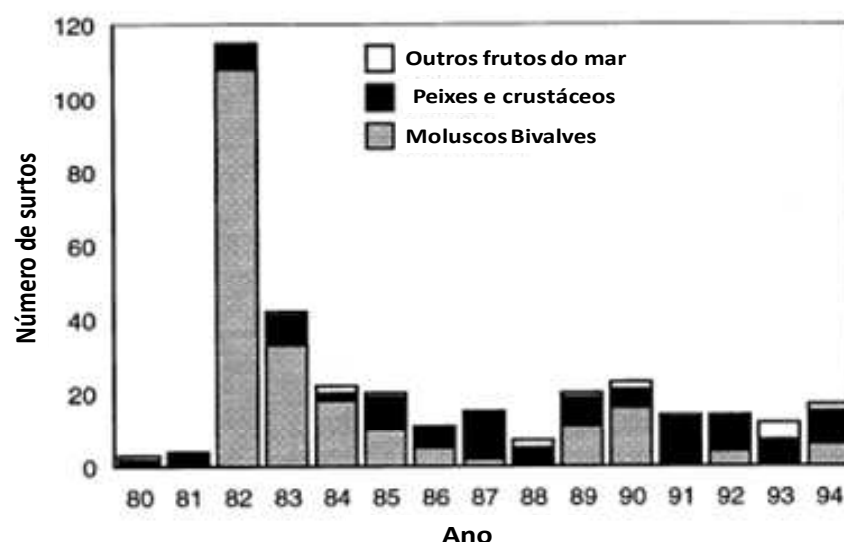
Doenças transmitidas por alimentos são a maior causa de morbidade e hospitalização nos Estados Unidos (BUTT et al., 2004). Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), entre os anos de 2000 e 2005, foram registrados nos EUA dez surtos de toxinfecções alimentares envolvendo a ingestão de ostras contaminadas por bactérias patogênicas. Destes, 70 % foram causados por *Vibrio parahaemolyticus*, 20% por *Vibrio cholerae* e 10% por *Salmonella typhi*, envolvendo, no total, cerca de 120 pessoas.



Todos os tipos de doenças associadas ao grupo dos *Vibrios* têm aumentado 40% nos últimos anos, e espécies de *Vibrios* relacionadas a moluscos bivalves tem sido isoladas em 75% das doenças transmitidas por produtos marinhos (TEPLITSKI et al., 2009).

### 3.5 Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves

Após uma serie de surtos de doenças gastrointestinais associadas ao consumo de moluscos nos Estados Unidos nos anos 80, a *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) aumentou as restrições às importações de produtos marinhos, e os estados começaram a exigir maior controle nas análises de qualidade de água das áreas de cultivo; e assim passaram a patrulhar as áreas próprias para a captura de moluscos bivalves. Para facilitar o rastreamento dos produtos colocados à venda para o consumidor todas as exigências de qualidade do produto foram reforçadas. Com isso, o número de surtos relacionados a consumo de frutos do mar registrados em Nova York teve um grande declínio desde os anos 80 (WALLACE, et al., 1999) , como mostra a figura 2.



**Figura 2 - Número de surtos de doenças alimentares transmitidas por frutos do mar em Nova York, 1980-1994. Fonte: WALLACE, et al., 1999**

A maioria dos alimentos marinhos consumidos no planeta é produzido em fazendas de aquicultura (18,7 x 10<sup>6</sup> toneladas produzidos através de aquicultura, contra 13,8 x 10<sup>6</sup> toneladas provenientes de captura). Em 2006, 96% das ostras, 94% dos mariscos e 48% dos camarões consumidos no mundo foram produzidos através da aquicultura (WORLD FISHERIES REPORT; URL: [www.fao.org.br/fishery/sofia/en](http://www.fao.org.br/fishery/sofia/en)). O fato de a maioria do pescado consumido ser cultivado e coletado em sistemas de aquicultura colabora e muito com o monitoramento das águas e aumenta assim a segurança microbiológica tanto do produto pré-capturado, como o do produto final (TEPLITSKI et al., 2009).

O grande problema relacionado à segurança alimentar envolvendo moluscos bivalves é reconhecido internacionalmente e a maioria dos países tem regulamentações próprias que controlam aonde e como esses moluscos podem ser coletados para venda. De acordo com a FAO, para assegurar a saúde pública do consumidor, é imprescindível o controle higiênico-sanitário da produção de moluscos através dos seguintes passos:

- a) Inspeção sanitária, através de monitoramento bacteriológico dos moluscos e das águas em que estes estão sendo cultivados,
- b) Permissão de cultivo somente em áreas sanitariamente apropriadas,
- c) *Relaying* (depuração natural);
- d) Depuração

Todos os países europeus seguem os padrões recomendados pela *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme* (EU SQAP), que classifica os moluscos bivalves em três classes: A, B e C, e para cada classe é permitida uma quantidade de coliformes termotolerantes por 100g o produto. Dependendo da classe em que o produto se encaixa, é indicado um tipo de tratamento antes de chegar ao consumidor final ou até pode ser proibida a venda (KAY et al., 2008). Enquanto a União Européia estabeleceu um sistema de classificação das áreas de cultivo baseado na análise dos moluscos, a legislação dos Estados Unidos, Chile e Brasil se baseia em padrões estabelecidos para as águas provenientes das áreas de cultivo dos moluscos.

No Brasil, o Comitê Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves - CNCMB, instituído pelo Decreto nº 5.564 de 19/10/2005 e coordenado pela Ministério da Aquicultura e Pesca se constitui em um colegiado técnico-consultivo

interinstitucional responsável pela elaboração, coordenação e avaliação do Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves-PNCMB (SEAP, 2007).

O Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves-PNCMB regulamenta o controle higiênico-sanitário de toda a cadeia produtiva de moluscos bivalves, desde a produção até a comercialização. A criação deste programa se justifica devido ao enorme potencial brasileiro para o cultivo de moluscos em praticamente todos os estados costeiros, ao rápido crescimento desse setor observado na última década, à necessidade de se assegurar um produto com qualidade tanto para o mercado interno quanto externo, e à possibilidade de escoamento da produção para outros países, gerando divisas para o Brasil. A legislação brasileira sobre o assunto ainda é deficiente e não contempla diversos aspectos e etapas do processo produtivo e necessita, portanto, ser atualizada para se equiparar aos marcos legais dos demais países produtores de moluscos bivalves. O PNCMB está sendo elaborado com base em programas análogos internacionalmente aceitos e referendados, visando à futura formalização de Memorandos de Entendimento com governos de outras nações, que permitirão que o Brasil possa se beneficiar do mercado internacional como exportador de moluscos bivalves (SEAP, 2007).

De acordo com a SEAP, 2007 a execução das atividades relacionadas aos moluscos bivalves no Brasil envolve:

- Controle da água para cultivo e extração e tem como encarregadas as Secretarias Estaduais e Municipais de Meio-Ambiente ou órgãos congêneres;
- Controle de trânsito interestadual de animais vivos e ao processamento industrial de moluscos está a cargo dos Departamentos de Sanidade Animal e de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA;
- Controle da condição higiênico-sanitária de moluscos disponíveis no comércio é executada pela vigilância sanitária municipal, com apoio estadual.
- Controle de surtos de agravos à saúde humana causados pelo consumo de moluscos contaminados é de responsabilidade conjunta da vigilância epidemiológica e sanitária municipal, com apoio estadual quando necessário; e

- Quando da ocorrência de eventos de biotoxinas marinhas e de outras emergências causadas pela contaminação de moluscos, todos os órgãos responsáveis devem desencadear as ações previstas com rapidez, agilidade, eficácia e transparência.

### **3.6 Bactérias indicadoras de contaminação fecal**

A enumeração de bactérias ou grupo de bactérias indicadoras de contaminação fecal é utilizada para avaliar a qualidade sanitária dos alimentos, sedimentos e águas destinadas ao consumo humano, agricultura, aquicultura, indústria e recreação. Microrganismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água há longo tempo, e mais recentemente na de alimentos, devido às dificuldades encontradas na detecção de microrganismos patogênicos, como por exemplo, *Salmonella typhi* (PITA, 2002; LANDGRAF, 2005).

Um indicador universal não existe, pois os especialistas devem selecionar um apropriado para a situação específica em estudo. Dentre os principais indicadores, se encontra o grupo dos coliformes fecais, colifagos, *Bifidobacterium* sp., *Clostridium perfringens* e o grupo dos enterococos. Esses microrganismos fazem parte da flora intestinal do trato digestivo do homem e dos animais de sangue quente e são excretados em suas fezes, por este fato, a presença desses no ambiente indica contaminação de origem fecal e risco de aparecimento de microrganismos patógenos (PITA, 2002).

Os melhores indicadores da presença de patógenos entéricos em fontes de poluição fecal devem ter as seguintes propriedades: estar presentes em águas contaminadas por material fecal em densidades mais elevadas do que os patógenos; ser incapazes de crescer em ambientes aquáticos, mas capazes de sobreviver mais tempo que os microrganismos patogênicos; apresentar resistência igual ou maior que os patógenos aos processos de desinfecção; ser facilmente enumerados por técnicas precisas; sua detecção ser aplicável a todos os tipos de águas naturais (doce, salobra, salina); estar ausente em águas não poluídas e associadas exclusivamente a despejos de fezes animais e humanas e apresentar densidade diretamente correlacionada com o grau de contaminação fecal. Este conjunto de características constitui uma definição teórica de um indicador, pois nenhum tipo de bactéria preenche totalmente estes requisitos. No

entanto, estas características restringem os indicadores a alguns grupos de bactérias (CABELLI et al., 1983 apud RAMOS, 2007).

Ao se tratar de casos de saúde pública envolvendo doenças transmitidas através de bactérias presentes na água, a medida correta seria o direto monitoramento microbiológico dos patógenos na água. Entretanto, esses microrganismos podem ser raros, difíceis de cultivar, desiguais na sua distribuição, ainda que altamente infecciosos em mínimas contagens. Além disso, para o monitoramento de todos os patógenos, seria necessário um grande número de técnicas, que apresentam custos elevados, maior tempo de análise e são tecnicamente mais complicadas. Devido a essas limitações, se utiliza como prática padrão o monitoramento de bactérias indicadoras, como por exemplo: coliformes, *Clostridium perfringes*, *Escherichia coli*, enterococos nas águas destinadas a consumo humano, recreacionais e de cultivo de moluscos (FIELD & SAMADPOUR, 2007; EFSTRATIOU et al., 2009).

Tem sido amplamente reportado que vários patógenos entéricos humanos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., e vírus da Hepatite A são encontrados em águas superficiais como resultado de contaminação fecal humana, e que *E. coli* e enterococos são os melhores indicadores de contaminação fecal, pois estas bactérias colonizam o intestino de humanos e outros animais de sangue quente (AHMED et al., 1995) e segundo alguns estudos recentes, a presença de cepas de vibrios TDH-positivos no ambiente sugere a possibilidade de contaminação fecal em águas marinhas (CABRERA-GARCIA et al., 2004).

Diversos estudos vêm demonstrando correlações entre níveis de coliformes termotolerantes, *E.coli* e enterococos e os níveis de contaminação por vírus da Hepatite A e enterovírus em águas salinas (GERSBERG et al., 2006), estes indicadores também vem se mostrando eficazes na predição da presença de *Salmonella* sp em águas marinhas (EFSTRATIOU, 2009).

*Escherichia coli* é uma bactéria amplamente aceita como um potente indicador de contaminação fecal, pois geralmente não é patogênica, é facilmente detectável e cultivável, além de ser encontrada em concentrações mais altas que microrganismos patogênicos em águas superficiais. Enterococos são também considerados bactérias indicadoras ideais devido a sua capacidade de sobreviver em ambiente natural por longos períodos e tem sido tradicionalmente usados como

indicadores de contaminação fecal em ambiente aquático (MANERO et al., 2002; LLEO et al., 2005). O grupo dos enterococoss, coliformes fecais e *Escherichia coli* são os microrganismos utilizados atualmente pelas legislações dos Estados Unidos (USEPA, 1986), da União Européia (EU, 2006) e do Brasil (CONAMA, 2001) como indicadores de qualidade de águas destinadas a balneabilidade.

A correta correlação entre a presença de bactérias indicadoras e de diversos agentes patogênicos na água e nos moluscos bivalves tem sido bastante questionada. A concentração de microrganismos nos moluscos filtradores varia de um animal para outro e também depende de condições meteorológicas, da temperatura e da atividade geral do molusco (HUSS, 2000, YANG et al., 2006).

### **3.6.1 Coliformes Termotolerantes e *Escherichia coli***

De acordo com BASTOS e colaboradores (2000), desde os primórdios da Microbiologia Sanitária, existem dificuldades em se isolar organismos patogênicos em amostras ambientais, para tanto se sugere que a indicação de contaminação seja feita através de indicadores microbiológicos da presença de material fecal no meio ambiente, e os organismos que melhor têm cumprido este papel são as bactérias do grupo coliforme. Devido a sua baixa tolerância a salinidade das águas do mar, sua detecção neste ambiente denota uma descarga recente e/ou constante de matéria fecal.

O Ministério da Saúde, através da Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adotou a denominação Coliformes a 45°C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliformes termotolerantes” como equivalentes a “coliformes a 45°C”.

O Ministério do Meio Ambiente, através da Resolução nº 357 de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA adota a denominação “coliformes termotolerantes”.

O pesquisador Schardinger foi o primeiro a sugerir o uso da *E. coli* como indicador de poluição fecal, uma vez que ele pode ser isolado e identificado mais facilmente do que outros patógenos presentes na água. O teste para mensurar a

portabilidade da água foi sugerido em 1895, e marcou o início do uso dos coliformes como indicadores de patógenos em água, uma prática que foi estendida para os alimentos (JAY, 2005).

O grupo dos coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais, é um sub-grupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás. Essa definição objetivou a princípio, selecionar apenas as enterobactérias originárias do trato gastrointestinal (*E. coli*), porém atualmente sabe-se que o grupo inclui membros de origem não fecal (varias cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*). Em função disso, o termo coliformes fecais tem sido, gradativamente, substituído por coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2007).

As principais vantagens dos coliformes como indicadores são o fato de se encontrarem normalmente no intestino humano e animais de sangue quente e serem eliminados em grandes quantidades nas fezes. Além disso, em função da sua prevalência nos esgotos podem ser quantificados na água recém contaminada, através de métodos simples. Outros microorganismos patógenos não têm sido utilizados como indicadores de poluição, devido à pequena população presente nas águas poluídas e às dificuldades de serem manipulados em técnicas de laboratório. As principais limitações são o fato de estarem incluídas no grupo as espécies de origem não fecal, que podem se multiplicar nas águas poluídas, além dos métodos de detecção serem sujeitos a falsos resultados negativos, por interferência de *Pseudomonas*; e falsos positivos, através da ação sinérgica de outras bactérias (GALVÃO, 2004).

Como indicador de poluição fecal recente, os coliformes termotolerantes apresentam-se em grande quantidade nas fezes, sendo portanto, facilmente isolados e identificados na água por meio de técnicas simples e rápidas, além de apresentarem sobrevivência praticamente semelhante a bactérias enteropatógenas. No entanto, a presença de coliformes termotolerantes nas águas não confere a estas uma condição infectante. Este subgrupo das bactérias coliformes não é por si só prejudicial à saúde humana, apenas indica a possibilidade da presença de quaisquer organismos patogênicos (CETESB. 2003).

Cerca de 95% dos coliformes existentes nas fezes humanas e de outros animais são *E. coli* e, dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, dentro do grupo de coliformes termotolerantes, a *E. coli*, embora também possa ser introduzida a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento, pois satisfaz todas as exigências de um indicador ideal de poluição. Por esse motivo, as tendências atuais se direcionam no sentido da detecção específica da *E. coli* (SILVA et al., 2007; LANDGRAF, 2005).

A *E. coli* é uma espécie comensal predominante na microbiota anaeróbia facultativa do trato gastrointestinal dos humanos e dos animais de sangue quente. É também de um modo geral um comensal inofensivo, mesófilo típico que cresce na faixa de temperatura de 7°C-37°C, sendo que algumas cepas enteropatogênicas crescem a 4°C. Essas cepas patogênicas são classificadas de acordo com a sua ação no hospedeiro, podendo ser enteropatogênicas (EPEC), enterotoxigênicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroagregativas (EaggEc), uropatogênicas (UPEC), neonatalmeningite (NNEC), e facultativamente enteropatogênicas (FEEC) (JAY, 2005).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), é o órgão que estabelece a classificação e normaliza os parâmetros de qualidade da água, segundo seu uso preponderante. Este órgão determina que em águas salobra ou salina para o cultivo de moluscos bivalves destinados a alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes não deverá exceder a 43 NMP em 100mL de água, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes em 100mL, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de cinco amostras. A *Escherichia coli* pode ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente (BRASIL, 2005).

Em relação à carne de moluscos bivalves, o Ministério da Saúde através da Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a qual aprova o regulamento técnico e princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos, estabelece para moluscos bivalves *in natura* limites máximos permitidos de *Estafilococos coagulase*



positivo de até  $10^3$  UFC/g e ausência de *Salmonella* spp em 25g. O limite para Coliformes a 45°C somente é estabelecido para moluscos bivalves, temperados ou não, industrializados, resfriados ou congelados, sendo este limite de  $5 \times 10$  NMP/g.

Cabe salientar que os limites de microrganismos tolerados pela RDC nº 12 (2001), para moluscos bivalves temperados ou não, industrializados, resfriados ou congelados, não se referem ao molusco consumido cru. Porém, moluscos são tradicionalmente consumidos crus ou levemente cozidos. Desta forma, são vistos como alimento de alto risco e estão amplamente associados com intoxicações alimentares, provavelmente como consequência da poluição ambiental (BEIRAO et al., 2004).

### 3.6.2 Enterococos

Os enterococos, anteriormente classificados no gênero *Streptococcus*, grupo sorológico D de Lancefield (*S. avium*, *S. bovis*, *S. faecalis* e *S. faecium*) encontram-se atualmente reclassificados no novo gênero *Enterococcus*, mantendo apenas duas espécies remanescentes no gênero *Streptococcus* (*S. bovis* e *S. equinus*). O novo gênero inclui: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. maloduratus* e *E. mundtii*. Os enterococos mais comumente encontrados em alimentos são *E. faecalis* e *E. faecium* (SILVA et al., 2007; LANDGRAF, 2005).

São bactérias láticas na forma de cocos ou cocobacilos Gram-positivos, que ocorrem isolados, aos pares ou em pequenas cadeias; são catalase negativos e anaeróbios facultativos. Alguns são móveis e a temperatura ótima de crescimento é de 35°C-37°C. São típicos da microbiota de animais de sangue quente ou frio e suas principais características diferenciadas são a capacidade de hidrolisar a esculina, crescer a 45° C, crescer a 10° C, crescer em pH 9,6 e na presença de NaCl 6,5%. Estes microrganismos não requerem atmosfera contendo elevada concentração de CO<sub>2</sub> para sua multiplicação embora, algumas cepas o façam melhor sob essa condição. O metabolismo fermentativo resulta em L(+)ácido láctico como principal da fermentação da glicose, devido a isso são conhecidos como típicas bactérias ácido-láticas homo-fermentativas (SILVA et al., 2007; APHA, 2005; DOMIG et al., 2003).

As bactérias do grupo dos enterococos estão amplamente distribuídas na natureza, estando presentes em solos, águas, plantas, vegetais, produtos alimentícios derivados de leite, microbiota autóctone de vários alimentos e por fim, fazem parte, em grandes quantidades, da microbiota normal do trato gastrointestinal e também das fezes de animais vertebrados. Este último fator, associado à habilidade de sobrevivência no meio ambiente e à pronunciada resistência ao calor, explica o fato dos enterococos poderem ser usados como indicadores de contaminação fecal (HARDY & WHILEY, 1997; EATONE & GASSON, 2001; GIRAFFA, 2002; IVERSEN et al., 2002 apud GOMES, B.C., 2007). A relação entre a presença de enterococos em alimentos e aspectos relacionados à segurança alimentar tem sido extensivamente revisada por FRANZ et al., 1999 e GIRAFFA et al., 2002.

Geralmente não ocorrem em águas e solos virgens ou não poluídos, por isso sua identificação pode dar indicação de contaminação fecal (humana ou animal) recente. Sua maior resistência aos processos de tratamento de esgoto, em comparação com coliformes fecais, permite uma correlação mais direta com a sobrevivência sanitária. Além disso, as taxas de resistência são similares àsquelas das bactérias patogênicas aquáticas (JAY, 2005).

As principais aplicações das contagens de enterococos são a avaliação de mananciais e corpos d'água, a avaliação da qualidade da água tratada e a avaliação e o monitoramento das condições higiênicas de sistemas industriais (SILVA et al., 2007; JAY, 2005).

Estudos em praias demonstraram que número de gastroenterites associadas banhistas dos locais de análise, está diretamente relacionada com a qualidade da água e que os enterococos são os mais eficientes indicadores bacterianos da qualidade da água (APHA, 2005).

Em JAY, 2005, encontram-se descritas características relevantes dos enterococos clássicos, as quais conduzem a utilização desses microrganismos como indicadores de poluição:

- Eles não se multiplicam na água, especialmente se o conteúdo de matéria orgânica for baixo;

- São geralmente menos numerosos em fezes humanas do que a *E. coli*, e relações de coliformes termotolerantes e para enterococos de 4,0 ou mais indicam contaminação por resíduo humano. Deste modo, o teste para enterococos, presumivelmente, reflete melhor a relação do número de patógenos intestinais do que os coliformes termotolerantes;

- Enterococos morrem mais lentamente em água do que coliformes, e desse modo, sobrevivem mais do que o patógeno cuja presença eles devem evidenciar.

A maioria das espécies de enterococos são de origem fecal humana, embora possam ser isolados de fezes de animais (CONAMA 2001). RIBEIRO (2002) avaliando indicadores microbianos de balneabilidade, encontrou uma maior sensibilidade de detecção de contaminação fecal para os enterococos, quando comparado a *E. coli* e coliformes fecais.

Em relação a qualidade das águas marinhas, os enterococos são contemplados na legislação brasileira, através da Resolução no 274, de 29 de novembro de 2000, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, para avaliação da qualidade sanitária das águas para balneabilidade. As águas são consideradas impróprias quando no trecho avaliado, for verificado valor obtido na última amostragem superior a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 *Escherichia coli* ou 400 enterococos por 100 mililitros.

Enterococos podem causar infecções no trato urinário, corrente sanguínea, endocárdio, abdome, mucosa nasal e no trato biliar; sendo reconhecidos como a segunda causa de infecções urinárias de feridas e a terceira causa mais comum de bacteremia hospitalar. A maior parte das infecções por enterococos no ambiente hospitalar origina-se da microbiota normal do paciente, embora esses microrganismos possam também ser transferidos de paciente para paciente ou adquiridos através do consumo de água ou alimentos contaminados (MURRAY et al., 2004).

É um grupo que tem se tornado questão central dentro dos diferentes áreas de pesquisa. Por um lado, eles desempenham um importante papel na fermentação de diversos produtos e por outro lado são considerados como indicadores de contaminação fecal, ou ainda como microrganismos com algum potencial patogênico (DOMIG et al., 2003). Além disso, apresentam resistência intrínseca a vários agentes antimicrobianos

como penicilinas, cefalosporinas, sulfonamidas, cloranfenicol, eritromicina, entre outros (FRANZ et al., 1999; HORNER et al., 2005).

Os enterococos resistentes a vancomicina têm sido causa de crescente preocupação, principalmente no que diz respeito a infecções hospitalares. Há suspeitas, porém evidências limitadas, de que a propagação através dos alimentos e do meio ambiente sejam importantes (CETINKAYA et. al, 2000).

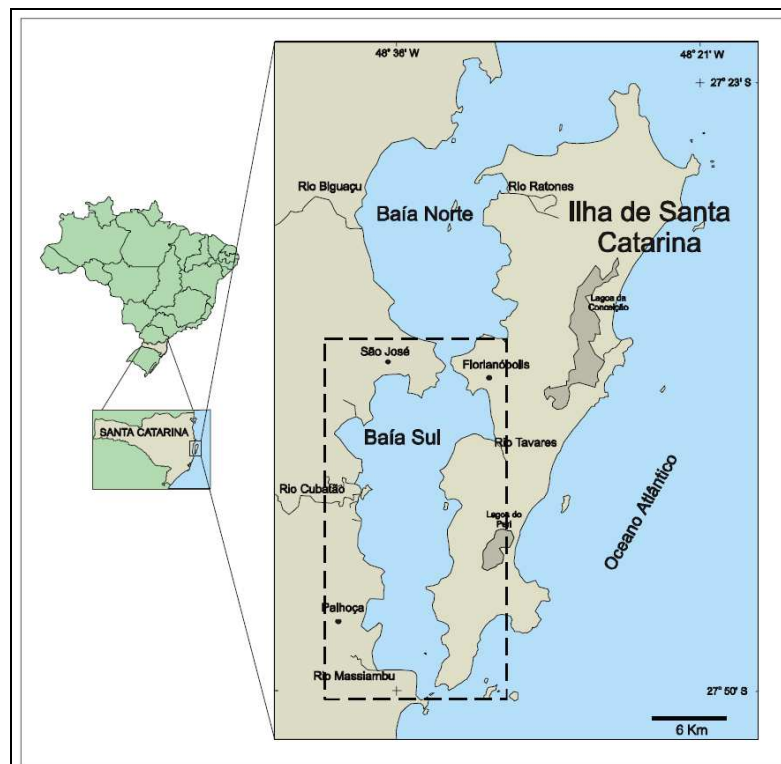
Sabe-se que quando expostas ao ambiente, espécies de bactérias em geral, e mais especialmente os *Enterococcus faecalis*, conseguem ativar diversas estratégias de sobrevivência, incluindo estados de latência e o estado conhecido como VBNC “viable but nonculturable” – viável mas não cultivável, conservando assim sua viabilidade. O estado VNBC é definido como um mecanismo de sobrevivência ativado pela bactéria em resposta a múltiplos fatores de estresse ambiental que permite aos microrganismos conservar sua viabilidade apesar da perda da capacidade de ser cultivável. Algumas cepas conseguem manter sua capacidade de serem cultivados por longos períodos de tempo (6-8 semanas), e quando finalmente alcançam o estado de incultivável, conseguem rapidamente ressuscitar. Além disso, tem sido demonstrado que esses mecanismos conservam as características patogênicas e podem resumir a divisão desta quando expostas a condições ótimas (LLÉO et al., 2005).

Outra importante característica dos enterococos é a habilidade de algumas cepas produzirem bacteriocinas (grupo de proteínas tóxicas a outras bactérias). De acordo com STROMPFOVA et al (2006) as bacteriocinas de enterococos, conhecidas como enterocinas, pertencem ao grupo IIa que são peptídeos pequenos, catiônicos, hidrofóbicos, termicamente estáveis e com atividade contra uma ampla variedade de microrganismos. Estas bacteriocinas vêm despertando muito interesse para seu uso na indústria de alimentos como antimicrobianos naturais (CLEVELAND et al., 2001; DRIDER et al., 2006).

## 4. Material e Métodos

### 4.1 Área de Estudo

Este trabalho foi realizado na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina (figura3) em 12 diferentes regiões geográficas, localizadas na parte insular e continental da Baía. As regiões seleccionadas se encontram onde estão concentrados os maiores números de cultivos de moluscos bivalves da Grande Florianópolis.



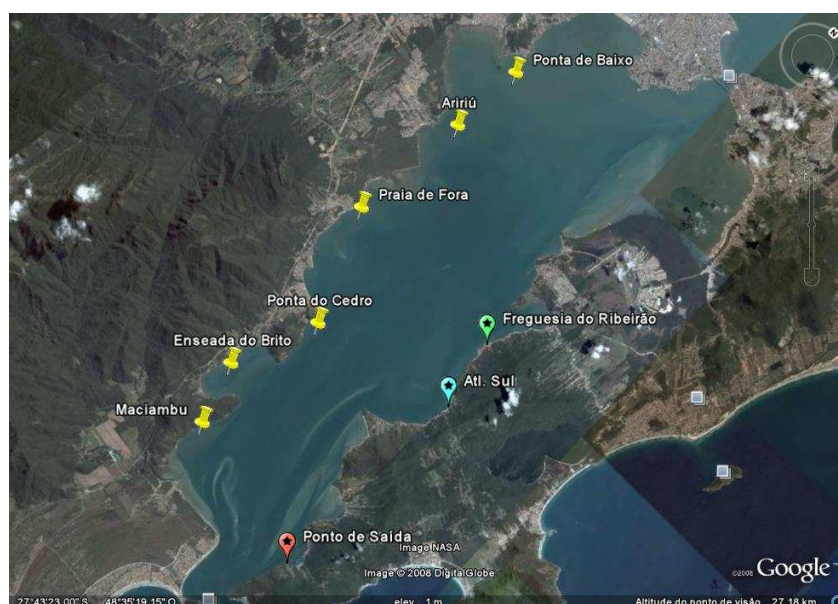
**Figura 3- A Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.**

Na lado insular da Baía Sul, foram estudados seis pontos, localizados no Distrito do Ribeirão da Ilha: Caieira da Barra do Sul (A), Tapera do Ribeirão (B), Costeira do Ribeirão (C), Freguesia do Ribeirão (D), Barro Vermelho (E) e Tapera da Base Aérea (F), como mostra a figura 4.



**Figura 4 - Pontos de coleta nas seis diferentes regiões da Baia Sul Parte Insular**

No lado continental da Baia Sul foram estudados seis seguintes pontos: Aririú (5), Praia de Fora (4), Ponta do Cedro (3), Enseada do Brito (2) e Maciambu (1), pertencentes ao município da Palhoça (SC), e Ponta de Baixo(6), no município de São Jose (SC), como mostra os pontos marcados em amarelo na figura 5.



**Figura 5 - Pontos de coleta nas seis diferentes regiões da Baia Sul Parte Continental marcados em cor amarela**

A eleição e caracterização dos pontos de coleta dentro de cada região geográfica foi determinada observando-se o local onde se concentrava o maior

número de espinheis (*long-line*) e/ou mesas, de maneira que obtivéssemos o ponto que melhor representasse as características dos cultivos dentro daquela região. Esses pontos foram geo-referenciados através de posicionamento por satélites (GPS-Global Position System), utilizando-se um aparelho GPS portátil Garmim 12.

A área de estudo recebe a influencia de rios, mangues, estuários e possui uma costa bem recortada, o que torna os pontos de estudo bastante distintos entre si. As coordenadas geográficas dos pontos geo-referenciados estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1- Coordenadas geográficas dos pontos de coleta de amostras**

	<b>Região Geográfica</b>	<b>Coordenadas Geográficas</b>
<b>Lado Continental</b>	<b>1</b>	27°48'27,3"S/48°37'09,7"O
	<b>2</b>	27°46'37,4"S/48°37'29,99"O
	<b>3</b>	27°45'03,7"S/48°36'48,1"O
	<b>4</b>	27°43'02,03"S/48°37'54,5"O
	<b>5</b>	27°40'23,6"S/48°37'37,1"O
	<b>6</b>	27°38'46,6"S/48°37'27,3"O
<b>Lado Insular</b>	<b>A</b>	27°48'84,9"S/48°33'98,1"O
	<b>B</b>	27°46'98,9" S/48°34'31,8"O
	<b>C</b>	27°44'35,0"S/ 48°33'89,0"O
	<b>D</b>	27°43'17,4" S/48°33'57,8"O
	<b>E</b>	27°42'11,1"S/ 48°33'33,7"O
	<b>F</b>	27°41'39,7" S/48°34'23,0"O

## 4.2 Coleta de Amostras

### Ostras

Foram coletadas amostras de ostras somente nas regiões geográficas situadas na parte Insular da Baía Sul, devido a uma maior proximidade e facilidade de contato com os maricultores parceiros desta área, devido à parceria com a AMASI – Associação dos Maricultores do Sul da Ilha.

As amostras de ostras frescas foram coletadas aleatoriamente nos compartimentos de lanternas de cultivo, nos pontos previamente identificados em cada região, sendo que doze ostras constituíram cada amostra.

As coletas foram realizadas nos anos de 2007, 2008 e 2009, foram coletadas cinco amostras em cada ano, em diferentes datas, nos seis diferentes pontos de coleta da Baía Sul Insular, totalizando 15 amostras de cada ponto, ou seja, 90 amostras de ostras foram analisadas neste período.

### **Águas Utilizadas para Cultivo das Ostras**

As coletas de água do mar proveniente dos locais de cultivo foram realizadas a 50 cm de profundidade, no sentido contrario a correnteza, em frascos estéreis com capacidade de 1L de água, sem haver contato do frasco aberto com a superfície do mar.

Foram realizadas coletas na Baía Sul Insular nos anos de 2007, 2008 e 2009, concomitantemente as coletas de ostras. Foram coletadas cinco amostras em cada ano, nos seis diferentes pontos de coleta da Baía Sul insular, totalizando 15 amostras de cada ponto, ou seja, 90 amostras de águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves foram analisadas neste período. As datas das coletas de amostras e os ensaios microbiológicas realizadas estão descritas na tabela 2.

**Tabela 2- Datas das coletas de amostras no lado Insular da Baía Sul e as análises microbiológicas realizadas.**

<b>Nº Amostra</b>	<b>Data da Coleta</b>	<b>Análise Microbiológica Realizada</b>
<b>1</b>	09/01/2007	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i>
<b>2</b>	23/01/2007	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i>
<b>3</b>	07/02/2007	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i>



4	21/02/2007	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i>
5	13/03/2007	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i>
6	14/10/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
7	04/11/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
8	18/11/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
9	02/12/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
10	17/12/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
11	13/01/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
12	27/01/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
13	10/02/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
14	17/03/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
15	07/04/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos

---

No lado continental da Baía Sul foram realizadas coletas de água nos meses de setembro de 2008 a julho de 2009. Foram coletadas 15 amostragens de cada ponto, totalizando 90 amostras de água utilizadas para cultivo de moluscos bivalves durante este trabalho. As datas de coletas de amostras e análises microbiológicas estão descritas na tabela 3.

Após a coleta, as amostras eram acomodadas imediatamente em caixas isotérmicas contendo gelo potável em embalagem vedada e transportadas em no máximo 2 horas até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos para análise.

**Tabela 3- Datas das coletas de amostras no lado Continental da Baía Sul e as análises microbiológicas realizadas.**

Nº Coleta	Data da Coleta	Análise Microbiológica
1	03/09/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
2	16/10/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
3	04/11/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
4	18/11/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
5	02/12/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
6	17/12/2008	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
7	13/01/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
8	27/01/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
9	10/02/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
10	17/03/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
11	07/04/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
12	29/04/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
13	26/05/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
14	23/06/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos
15	07/07/2009	Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> e Enterococos

---

#### **4.3 Parâmetros Físico-químicos das Águas Marinhas**

No momento da coleta das amostras de água de cultivo foram realizadas as análises de:

a) Salinidade - utilizando Salinômetro portátil da marca Alkafit, modelo 211

b) Temperatura e Oxigênio dissolvido - utilizando o aparelho YSI-550A, da YSI Incorporated

c) Transparência – utilizando o Disco de Secchi

A determinação do pH das águas foi realizada imediatamente após a chegada das amostras ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos – CAL/UFSC, em medidor digital de pH da marca Quimis modelo D-400A.

Todas essas análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.4 Preparo e diluições das amostras de ostras**

As ostras foram lavadas imediatamente após chegada ao Laboratório, com escova sob água potável corrente. Todo o material aderido às conchas foi raspado e retirado, para então serem secas ao ar livre, em bandejas plásticas previamente desinfetadas com álcool 70%. Após isso, foram abertas com faca estéril, e o líquido intervalar e a carne transferidos assepticamente para saco estéril, constituindo o *pool* de cada amostra.

Para as análises microbiológicas foram pesados 25g de amostra proveniente do *pool*, diluídas em 225 mL de Água Peptonada 0,1% e posteriormente desintegrada e homogeneizada. A partir desta diluição 1/10, foram feitas as demais diluições para proceder com as análises.

#### **4.5 Determinação do pH da carne das ostras**

A determinação do pH da carne das ostras foi verificado imediatamente após a constituição do pool de 12 ostras de cada amostra, em medidor digital de pH da marca Quimis modelo D-400A, as medições foram tomadas em triplicata.

#### **4.6 Acumulado Pluviométrico**

O acumulado pluviométrico na Grande Florianópolis foi acompanhado a partir dos dados recebidos mensalmente do Centro de Informações de Recursos Ambientais e Hidrometeorologia (CIRAM) da Epagri, provenientes da Estação 2027-ETE/ Insular, em Florianópolis, que fica próximo ao Terminal Rita Maria (27°36'00"S/48°33'21"O), a uma altura de 5m.

Foi verificado o acumulado mensal, o acumulado na semana anterior a cada coleta, e o acumulado dos trinta dias anteriores a cada coleta, durante todo o período do monitoramento.

#### **4.7 Ensaios Microbiológicos**

Os ensaios microbiológicos de coliformes termotolerantes, *Escherichia Coli* e enterococos em amostras carne de ostras foram realizadas de acordo com a metodologia do American Public Health Association – APHA, 2001; e as análises realizadas em amostras de água foram realizadas de acordo com metodologia do Standarts Methods for the Examination of Water and Wastewater – APHA/AWWA/WEF, 2005.

##### **4.7.1 Coliformes termotolerantes e *Escherichia Coli***

## **Ostras**

Transferiu-se 1mL das diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), para cada tubo de uma série de três tubos para cada diluição contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), e incubou-se a serão incubados a 35° C por 48 horas. De cada tubo de LST com turvação e produção de gás, serão transferidos 100 µl dos tubos positivos para tubos de tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC), os tubos de EC foram incubados em Banho-Maria a 45,5°C por 48 horas. A partir dos tubos de EC com turvação e produção de gás, foi realizada inoculação em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EAM) por esgotamento, incubando-as a 35° C por 24 horas. As colônias típicas de *Escherichia coli* foram submetidas a série bioquímica: Indol, Vermelho de Metila , Voges Proskauer e Citrato (IMVIC).

O resultado final de coliformes termotolerantes foi expresso a partir da tabela de Número Mais Provável - NMP, pela combinação do número de tubos positivos em cada serie da diluição, no qual a positividade caracterizou-se pela turvação e produção de gás em cada tubo individualmente. As contagens de *E.coli* foram feitas a partir da confirmação das colônias isoladas no Agar EAM na serie bioquímica do IMVIC, também expressos pela combinação de isolados positivos, através da tabela do NMP.

## **Águas Utilizadas para Cultivo das Ostras**

Foi empregada a técnica de cinco tubos múltiplos, na qual utilizou-se uma série de 5 tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) duplamente concentrado, seguida de duas séries de 5 tubos com LST em concentração normal, adicionando-se em cada série de 5 tubos 10, 1 e 0,1ml da água de cultivo respectivamente. Os tubos foram incubados a 35° C por 48 horas, e aqueles que apresentaram turvação e produção de gás, foram repicados para tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC), e incubados em Banho-Maria a 45,5°C por 48 horas., obtendo-se assim o resultado de coliformes termotolerantes através da contagem dos tubos com turvação e produção de gás

A partir dos tubos de EC com turvação e produção de gás, foi realizada inoculação em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EAM) por esgotamento, que foram incubadas a 35° C por 24 horas. As colônias típicas de *Escherichia coli* foram submetidas a série bioquímica: Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato (IMVIC).

As contagens foram realizadas através da utilização da tabela de Número Mais Provável – NMP, para séries de cinco tubos por diluição (10 mL, 1mL e 0,1 mL), seção 9221C (APHA, 2005).

#### **4.7.2 Enterococos**

Foi empregada a técnica de cinco tubos múltiplos, na qual utilizou-se uma série de 5 tubos com Caldo Azida Dextrose (CAD) duplamente concentrado, seguida de duas séries de 5 tubos com CAD em concentração normal, adicionando-se em cada série de 5 tubos 10, 1 e 0,1ml da água de cultivo respectivamente. Os tubos foram incubados a 35° C por 48 horas, e aqueles que apresentaram turvação tiveram seu conteúdo estriado em placas contendo Agar Pfizer (APZ) e incubadas invertidamente a 35° C por 24 horas. O crescimento de colônias pretas com halos marrons confirmava a presença de estreptococos fecais. Essas colônias foram transferidas para tubos contendo Caldo Brain Heart Infusion (BHI) contendo 6,5% NaCl e incubadas a 45°C. Aparecimento de turvação nestas condições indicava que a colônia pertencia ao grupo dos *Enterococcus*.

O cálculo dos resultados foi obtido computando-se a combinação dos tubos positivos e relacionando-os com a Tabela de Número Mais Provável – NMP, para séries de cinco tubos por diluição (10 mL, 1mL e 0,1 mL), seção 9221C (APHA, 2005).

#### **4.8 Identificação Taxonômica das Colônias de enterococos**

Através do Sistema API 20 STREP (Biomerieux, França), amostras que apresentaram resultado positivo para o gênero *Enterococci* foram taxonomicamente identificadas, conforme especificações do fabricante.

O API 20 Strep é um sistema padronizado que associa 20 testes bioquímicos que apresentam um elevado poder discriminatório. Permite efetuar um diagnóstico de grupo ou de espécie para a maioria dos *Streptococcus*, *Enterococcus* e para os microrganismos semelhantes mais correntes (ex.: *Aerococcus viridans*, *Lactococcus*). A galeria API 20 Strep comporta 20 microtubos que contêm substratos desidratados para a detecção de atividades enzimáticas ou de fermentação de açúcares.

#### **4.9 Teste de Sensibilidade das colônias isoladas e caracterizadas de enterococos a diferentes antimicrobianos de importância clínica**

As colônias de enterococos identificadas pelo Sistema API 20 STREP foram submetidas a determinação do perfil qualitativo de resistência a antibióticos, através do método de difusão de discos de antibióticos, conhecido como Método de Kirby-Bauer, segundo o recomendado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

Uma série de antibióticos impregnados em pequenos discos circulares de papel foram colocados sobre as placas contendo meio de cultura crescido com as bactérias em pesquisa inoculadas de forma homogênea, como se fosse um “tapete” sobre a superfície do meio. As placas foram incubadas a 35°C por 24h. A leitura do resultado é feita através da observação do aparecimento de uma zona clara ao redor do disco, indicando a inibição do crescimento do microrganismo. O resultado é expresso de acordo com o diâmetro do halo de inibição, que depende da sensibilidade da bactéria a um antibiótico específico, e classifica a bactéria como Resistente, Intermidiária ou Sensível ao agente antimicrobiano em questão.

Os agentes antimicrobianos testados foram: Amoxicilina + Clavulanato (30 µg), Ampicilina (10 µg), Ciprofloxacino (5 µg), Eritromicina (15 µg), Estreptomicina

(10 µg), Gentamicina (10 µg), Rifampicina (5 µg), Tetraciclina (30 µg) e Vancomicina (30 µg).

#### **4.10 Avaliação da Qualidade Microbiológica dos Principais Rios e Riachos que deságuam próximos as áreas de cultivo na Baía Sul**

Foram realizadas coletas de amostras de águas dos principais rios e córregos que drenam suas águas para a Baía Sul com objetivo de avaliar a qualidade microbiológica destes deságües. No lado Insular da Baía Sul, foram realizadas duas coletas em 14 diferentes pontos de deságüe, totalizando 28 amostras analisadas; e no lado Continental foram realizadas 3 coletas de 8 importantes tributários da margem ocidental da Baía, totalizando 24 amostras analisadas.

A escolha dos pontos de coleta foi feita levando-se em consideração a proximidade dos locais de cultivo e aglomerados populacionais e industriais, e suas respectivas localizações geográficas estão demonstradas na figura 6.



**Figura6- Principais rios e córregos que deságuam na Baía Sul, que tiveram suas águas analisadas.**

As coordenadas geográficas das estações de coleta das amostras de água dos Rios e Córregos estão descritas na tabela 4. Alguns córregos da porção insular da Baía

Sul são aqui chamados de rios e tem nomes fictícios utilizados com objetivo de esclarecer sua localização.

Para as águas dos rios e córregos foram feitos ensaios microbiológicos para contagem de coliformes a termotolerantes, *Escherichia coli* e enterococos com os métodos anteriormente citados para análise de água de cultivo. Amostras positivas para *Enterococcus* sp tiveram colônias características testadas no sistema API 20 STREP (Biomérieux) para identificação da espécie. No momento da coleta foram medidos os parâmetros físico-químicos das águas coletadas: temperatura da água, oxigênio dissolvido, salinidade e pH, com os mesmos equipamentos utilizados para estas medições nas águas salinas, anteriormente citados.

**Tabela 4- Coordenadas geográficas das estações de coleta de amostras de água provenientes de rios e deságües da Baía Sul.**

<b>Estação de Coleta</b>	<b>Coordenadas Geográficas</b>
1- Rio da Base Aérea	27°41'15.84"S/48°34'13.82"O
2 - Rio da Mutuca	27°41'15.84"S/48°34'13.82"O
3 - Rio Alto Ribeirão	27°41'44.38"S/48°33'23.66"O
4 - Rio da Oficina de Bike	27°41'56.17"S/48°33'08.05"O
5 - Rio da Capelinha	27°42'29.81"S/48°33'33.44"O
6 - Rio Riacho Doce	27°42'51.27"S/48°33'43.41"O
7 - Rio do Sandrini	27°43'14.98"S/48°33'52.24"O
8 - Rio da Casan	27°43'22.19"S/48°33'50.41"O
9 - Rio do Manguezinho do Eduardo	27°43'45.39"S/48°33'46.46"O
10 - Rio do Júlio	27°44'21.97"S/48°33'34.60"O
11 - Rio da Igreja da Costeira do Ribeirão	27°44'34.68"S/48°33'31.54"O
12 - Rio da Sorveteria da Costeira	27°45'06.74"S/48°33'39.33"O
13 - Rio da Taperinha	27°45'21.51"S/48°33'59.60"O
14 - Rio da Caieira	27°47'14.95"S/48°33'56.63"O
Rio Maciambú	27°49'27,51"S/48°37'08,52"O
Rio do Brito	27°46'15,10"S/48°37'41,33"O
Rio Cambirela	27°44'48,40"S/48°37'35,00"O
Rio da Praia de Fora	27°43'20.00"S/48°38'17.79"O
Rio Cubatão	27°40'52,40"S/48°38'20,74"O
Rio Aririú	27°40'54,75"S/48°38'22,43"O
Rio do Curtume	27°39'07,20"S/48°39'10,59"O
Rio Maruim	27°38'11,47"S/48°38'24,53"O

#### **4.11 Análise Estatística dos Dados**



Foi utilizado o programa Statistica 7.0<sup>®</sup> para fazer a análise estatística dos dados. Através do Teste não Paramétrico de Kruskal-Wallis comparou-se nível de contaminação pelas diferentes bactérias indicadoras nas águas e carne das ostras nas diferentes regiões ao longo do estudo. Havendo diferença estatística a nível de 5%, foi aplicado o Teste de Comparações Múltiplas entre Médias, com  $\alpha = 0,05$ .

A análise de variância ANOVA foi utilizada para comparação (a um nível de significância de 5%) dos parâmetros físico-químicos nas diferentes regiões de cultivo. Havendo diferença estatística, foi aplicado o Teste de Tukey para compará-las.

O Teste não Paramétrico de Correlação de Spearmann foi aplicado com a intenção de correlacionar as contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos e os parâmetros físico-químicos nas águas onde moluscos são cultivados e carne das ostras nas diferentes regiões de cultivo.

Análise de Regressão linear avaliou a influência dos acumulados pluviométricos nas contagens dos diferentes microrganismos analisados.

Para fins de cálculos estatísticos, sempre que os resultados obtidos na tabela do NMP foram  $<3$  NMP/g;  $<1,8$  NMP/100mL ou  $>1600$  NMP/100mL, estes resultados foram substituídos pelo número decimal imediatamente inferior ou superior, ou seja: 2 NMP/g; 1,7 NMP/100mL e 1601 NMP/100ml, respectivamente.

Os pontos de cultivos foram divididos em pertencentes ao lado insular e lado continental da baía, e assim foram analisados e discutidos os seus respectivos resultados, o que torna as comparações estatísticas mais relevantes.

## **5. Resultados e Discussão**

### **5.1 Parâmetros físico-químicos**

#### **Baia Sul Lado Insular**

As coletas foram realizadas nos meses de outubro a março, compreendendo, portanto, as estações de primavera e verão nas quais a temperatura da água do mar variou de 20°C a 29°C, e temperatura média das 6 regiões geográficas estudadas foi de  $24,29^{\circ}\text{C} \pm 2,15$ .

Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as temperaturas das regiões A e F, que provavelmente ocorreu devido ao fato das coletas acontecerem no início da manhã na região A e por volta das 12h na região F, quando as temperaturas da água já sofreram elevação que ocorre normalmente durante o início do dia.

Em estudo realizado por Silveira-Jr et al., 2008<sup>a</sup>, as medições realizadas na Costeira do Ribeirão, durante o período de setembro de 2001 a dezembro de 2007, revelaram a temperatura média da água de  $21,98 \pm 3,50^{\circ}\text{C}$  neste período.

A salinidade média das 6 regiões analisadas foi de  $32,40 \pm 4,26$  ups; sendo a máxima de 37 ups e a mínima medição detectada de 12 ups, no mês de dezembro de 2008, logo após longa descarga pluviométrica que incidiu sobre a bacia de captação da baía Sul. Não foi observada diferença estatística entre as médias de salinidade nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

De acordo com as definições da Resolução CONAMA nº 357/2005, as águas são consideradas salinas quando apresentam salinidade igual ou superior a 30‰.

Os resultados de Silveira-Jr et al., 2008<sup>b</sup>, durante um ano de monitoramento diário da salinidade no Ribeirão da Ilha, apontaram a salinidade média de  $33,7 \pm 2,9$  ups, sendo que a mínima foi de 10,0 ups e a máxima 37,0 ups.

A amplitude de pH observada nas águas das 6 regiões de cultivo do lado insular da Baía Sul foi de 7,6 a 8,19, e a média encontrada foi de  $8,19 \pm 0,14$ . De acordo com a Resolução CONAMA 357/2005, as águas salinas de classe I, devem ter pH entre 6,5-8,5 não devendo ultrapassar 0,2 unidades. Não foi observada diferença estatística entre as médias de pH nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

Curtius e colaboradores (2003) encontraram valores de pH em torno de 8,0 na região do Ribeirão da Ilha.

O valor médio de oxigênio dissolvido (O.D.) nas águas foi de  $6,87 \pm 0,83$  mg/L O<sub>2</sub>. Não foi observada diferença estatística entre as médias de oxigênio dissolvido nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

De acordo com Resolução CONAMA 357/2005, as águas salinas de classe I devem apresentar em qualquer amostra O.D. não inferior a 6mg/L O<sub>2</sub>.

Bessen (2005) encontrou nas águas do Ribeirão da Ilha a média de oxigênio dissolvido de  $6,71 \pm 1,14$  mg/L dos anos de 1999 a 2001.

A transparência é a medição da penetração vertical da luz solar na coluna d'água com o disco de Secchi, quanto mais material em suspensão estiver presente na água, maior será a turbidez e, conseqüentemente, menor será a transparência. A transparência média das 6 regiões de cultivo foi de  $1,50 \pm 0,50$  m, com máxima de 4 e mínima de 0,65m. Não foi observada diferença estatística entre as médias de transparência nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

Os valores de pH das ostras das diferentes regiões da Baía Sul variou entre 5,82 e 6,77, e o pH médio observado foi  $6,17 \pm 0,20$ . A legislação brasileira não estabelece limites de pH para moluscos, somente para os peixes. Segundo COOK (1991) pH acima de 6,0 para a carne de ostra é considerado bom, e pH de 6,5 é comumente apresentado pela ostra *Crassostrea gigas* viva.

Os valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das amostras analisadas em cada região geográfica estão descritos na tabela 5.

**Tabela 5- Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das amostras analisadas nas 6 diferentes regiões geográficas analisadas no lado insular da Baía Sul.**

<b>Parâmetros</b>	<b>Região A</b>	<b>Região B</b>	<b>Região C</b>	<b>Região D</b>	<b>Região E</b>	<b>Região F</b>
<b>Temp. (°C)</b>	*22,94±2,03	23,25±1,88	24,58±2,02	24,85±1,93	24,94±1,99	*25,24±2,26
<b>pH água</b>	8,14±0,20	8,16±0,11	8,22±0,14	8,22±0,13	8,13±0,18	8,26±0,15
<b>O.D (Mg.L<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>)</b>	6,85±0,62	6,77±0,56	6,84±0,89	6,85±1,09	6,68±0,75	7,23±1,02
<b>Sal (ups)</b>	33,93±3,63	33,33±3,29	32,8±3,47	32,47±3,50	30,66±6,51	31,2±4,04
<b>Transp. (secchi)</b>	1,72±0,75	1,44±0,41	1,56±0,33	1,44±0,44	1,56±0,45	1,31±0,38
<b>pH carne Ostras</b>	6,10±0,05	6,13±0,05	6,13±0,04	6,22±0,04	6,30±0,07	6,12±0,05

\*Médias apresentam diferença estatística  $p < 0,05$

### **Baía Sul Lado Continental**

Os valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos de cada região geográfica estão descritos na tabela 6.

As coletas de amostras neste lado da Baía foram realizadas nos meses de setembro de 2008 a julho de 2009, compreendendo, portanto todas as estações do ano, durante as quais a temperatura das seis diferentes regiões geográficas variou de 17,9 a 27°C, e teve média de 22,93±2,59°C. Não foi observada diferença estatística entre as médias de temperatura nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

O pH médio dos pontos de cultivo analisados foi de 8,32±0,15, e amplitude variou de 8,08 a 8,70 estando dentro dos padrões da Resolução CONAMA 357/2005 para as águas salinas de classe I. Não foi observada diferença estatística entre as médias de pH nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

A média de oxigênio dissolvido nas águas da porção continental da Baía Sul foi de  $7,29 \pm 0,75 \text{ mg/L O}_2$ . Não foi observada diferença estatística entre as médias de oxigênio dissolvido nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ . O valor esta de acordo com Resolução CONAMA 357/2005.

**Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das 6 diferentes regiões geográficas analisadas no lado continental da Baía Sul.**

Parâmetros	Região 1	Região 2	Região 3	Região 4	Região 5	Região 6
Temp. (°C)	21,80±2,05	22,75±2,54	22,77±2,54	23,26±2,72	23,52±2,77	23,47±2,79
pH	8,27±0,12	8,30±0,16	8,33±0,13	8,32±0,13	8,32±0,18	8,34±0,19
O.D (Mg.L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )	7,27±0,58	7,09±0,52	7,05±0,58	7,12±0,60	7,57±1,03	7,65±0,91
Sal (ups)	*32,53±5,14	33,13±3,80	33,00±3,38	30,93±3,79	*27,93±7,25	29,47±6,01
Transp. (secchi)	1,58±0,55	1,43±0,55	1,64±0,50	1,32±0,41	1,39±0,45	1,47±0,53

\*Médias apresentam diferença estatística,  $p < 0,05$

A determinação de O.D. pode ser utilizada como indicador do grau de poluição por matéria orgânica. O oxigênio é essencial a todas as formas de vida aquática, incluindo os organismos responsáveis pela auto-purificação da água em processos naturais. A determinação da concentração de oxigênio dissolvido é, portanto primordial em estudos de qualidade da água, uma vez que o oxigênio está envolvido ou influencia praticamente todos os processos químicos e biológicos que ocorrem em um corpo hídrico.

A salinidade média das águas foi de  $31,17 \pm 5,31$  e variou de 15 a 36 ups durante o período de estudos, ocorreu diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as águas da região do 1 e 5, provavelmente pelo fato da região 5 estar localizada próxima a três importantes tributários de água, Rios Maruim, Cubatão e Aririu.

A transparência da água variou de 0,65 a 2,70m e teve média de  $1,14 \pm 0,50$ . Não foi observada diferença estatística entre as médias de transparência nas diferentes regiões de cultivo,  $p > 0,05$ .

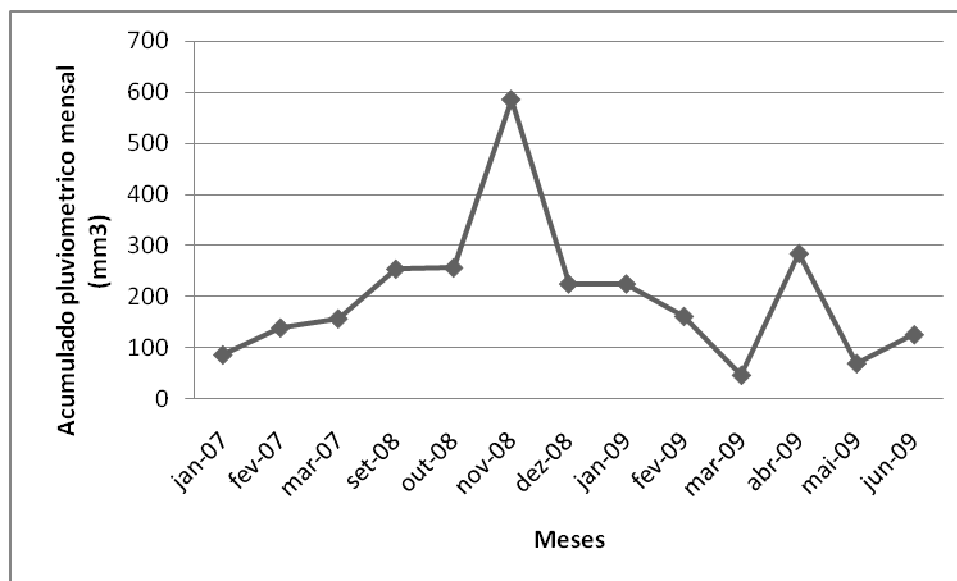
BESSEN (2005) pesquisando parâmetros físico-químicos na Enseada do Brito, nos anos de 1999 a 2001, encontrou médias anuais de temperatura de  $22,78 \pm 3,69$  °C; pH de  $7,95 \pm 0,38$ ; oxigênio dissolvido de  $6,71 \pm 1,14$  mg/L e salinidade de  $31,95 \pm 2,41$ .

## **5.2 Acumulado pluviométrico**

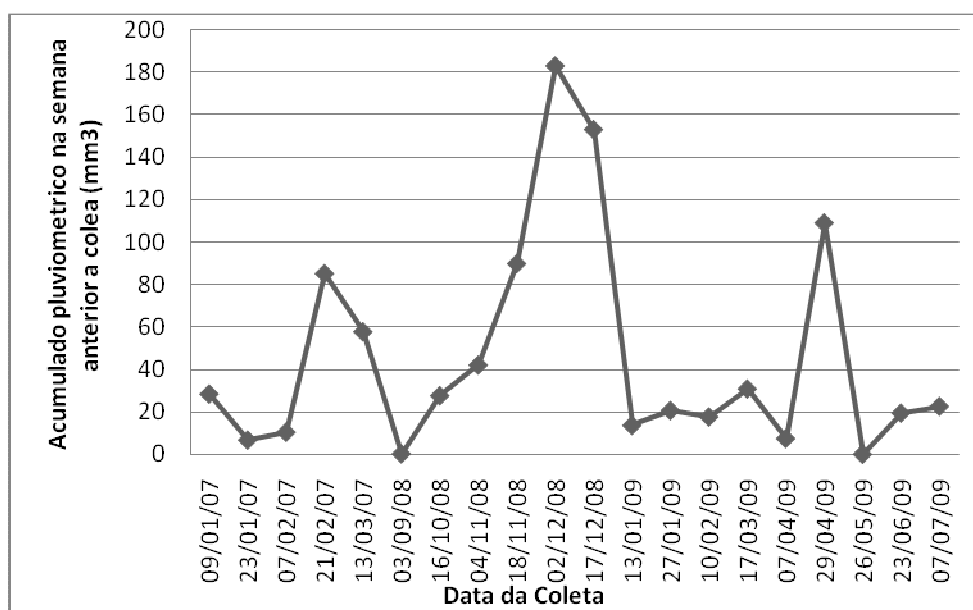
Os dados pluviométricos da região da Grande Florianópolis foram obtidos junto a CIRAM-EPAGRI. Pode-se observar na figura 6 que o mês de novembro de 2008 foi o mês no qual ocorreu o maior pico registrado durante o período estudado, sendo alcançado um valor de  $586,2 \text{ mm}^3$ . Durante a estação da primavera, que compreende os meses de outubro, novembro e dezembro ocorreram períodos de chuvas mais intensas.

Em relação ao acumulado pluviométrico da semana anterior as coletas (figura 7), os maiores picos ocorreram nos meses de novembro e dezembro de 2008 e abril de 2009, segundo dados da CIRAM-EPAGRI.

De acordo com a análise de regressão linear, a salinidade foi negativamente influenciada pelo acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta nos pontos de cultivo da porção insular ( $\beta = -0,81$  e  $p < 0,05$ ) e na porção continental da Baía Sul ( $\beta = -0,67$  e  $p < 0,05$ ).



**Figura 6- Acumulado pluviométrico mensal na região da Grande Florianópolis durante o período de estudo**



**Figura 7- Acumulado pluviométrico da semana anterior as coletas na região da Grande Florianópolis durante o período de estudo**

### 5.3 Análises Microbiológicas

#### 5.3.1 Coliformes Termotolerantes

## Baia Sul lado Insular

### Ostras

As contagens de coliformes termotolerantes das 90 amostras de carne de ostras provenientes das seis diferentes regiões de cultivo situados na parte insular da Baía Sul variaram de < 3 a 9MPN/g, sendo que 73,3% das amostras analisadas apresentaram contagens de coliformes termotolerantes inferiores a 3NMP/g. As regiões E e F apresentaram as maiores contagens e percentil 90, entre as regiões analisadas. A tabela 7 mostra as contagens médias de coliformes termotolerantes nas diferentes regiões de cultivo.

**Tabela 7- Média geométrica e percentil 90% das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras de ostras das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por grama**

Região Cultivo	Média Geométrica (NMP/g)	Percentil 90% (NMP/g)
A	2,13	2,00
B	2,73	4,00
C	2,60	4,00
D	2,80	4,00
E	3,40	9,00
F	3,45	7,00

RAMOS (2007) ao pesquisar coliformes termotolerantes em ostras provenientes das mesmas regiões geográficas encontrou valores variando de <3 a 80 NMP/g, e 77% das amostras analisadas apresentaram contagens de < 3NMP/g. A região E apresentou a maior média geométrica de coliformes termotolerantes e o maior percentil 90 nos estudos da autora.

Não foi observada diferenças estatísticas entre as médias de coliformes termotolerantes ( $H=5,2651$ ;  $p=0,3844$ ) nas amostras das diferentes regiões de cultivo.



Correlacionando as contagens de coliformes termotolerantes com os parâmetros físico-químicos analisados, observou-se somente uma pequena correlação com a temperatura da água (Spearman  $R=0,249$ ,  $p<0,05$ ), e nenhuma correlação com acumulados pluviométricos.

Segundo SOLIC et al.(1999) a taxa de concentração de coliformes fecais nos bivalves depende da taxa de filtração da água do mar, e um dos mais importantes fatores ambientais que controlam a filtração de bivalves é a temperatura.

A legislação brasileira em vigor não estabelece limites de coliformes termotolerantes ou coliformes a 45°C para moluscos bivalves in natura ou congelados pois na legislação brasileira esse tipo de regulamentação é baseada em padrões fornecidos pela análise da água.

Na comunidade européia, a European Union Shellfish Quality Assurance Programme (EU SQAP) determina que moluscos cultivados em uma área categorizada como A podem ser vendidos diretamente para consumo humano se estes moluscos contiverem menos de 300 coliformes termotolerantes por 100g de carne . Moluscos provenientes de áreas de categoria B não devem exceder (em 90% das amostras) o limite de 6000 coliformes termotolerantes por 100 g de carne. Estes moluscos somente podem ser colocados a venda após depuração ou outro tratamento térmico aprovado, com objetivo de se enquadrarem nos padrões da categoria (RODGERS, 2001).

MACHADO et al.(2001) sugerem que a determinação de coliformes fecais em carne e líquido intervalar, para avaliar a qualidade dos moluscos apresenta maiores possibilidades como padrão de normatização do que a análise da água das áreas de cultivo, uma vez que as ostras são concentradoras dos resíduos, e conseqüentemente das bactérias existentes nas águas em que estão inseridas.

### **Águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves**

As contagens de coliformes termotolerantes nas amostras de água salinas provenientes das seis diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul variaram de <1,8 a 540 NMP/100mL, sendo que as maiores médias foram detectadas nas regiões do E e F, como mostra a tabela 8.

**Tabela 8- Média geométrica e percentil 90% das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras de águas salinas das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

<b>Região Cultivo</b>	<b>Média Geométrica (NMP/100mL)</b>	<b>Percentil 90% (NMP/100mL)</b>
<b>A</b>	2,82*	4,50
<b>B</b>	3,89	13,00
<b>C</b>	4,34	33,00
<b>D</b>	6,42	49,00
<b>E</b>	15,80*	210,00
<b>F</b>	6,73	46,00

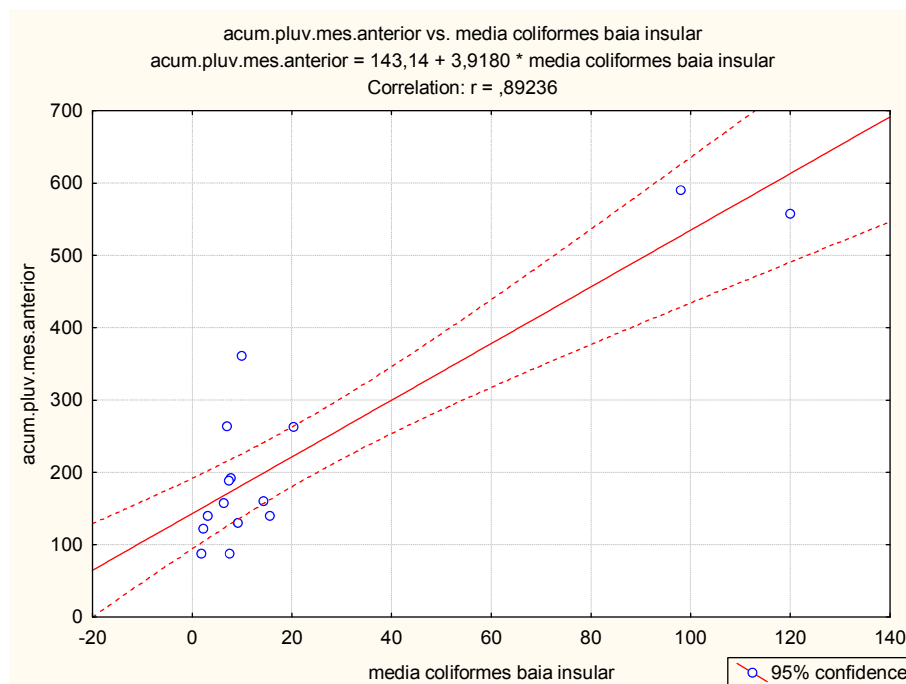
---

\* Médias apresentam diferença estatística ao nível de 5% (H=15,3476 e  $p<0,05$ )

Houve diferença estatística (H=15,3476 e  $p<0,05$ ) entre a região do E, que apresentou a maior média e percentil 90% e a região A, que apresentou as menores contagens de coliformes termotolerantes.

Correlacionando as contagens de coliformes termotolerantes com os parâmetros físico-químicos analisados, observou-se que somente a salinidade apresentou correlação estatística com as contagens de coliformes (Spearman  $R = -0,57$  e  $p<0,05$ ).

Ao se analisar os pontos de cultivos da porção insular da Baía Sul como um todo, pode-se perceber, através da análise de regressão linear, que o acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta das amostras influenciou nas contagens de coliformes termotolerantes ( $\beta = 0,835$  e  $p<0,05$ ), assim como o acumulado pluviométrico do mês anterior a coleta, ou seja dos últimos 30 dias que antecederam a coleta ( $\beta = 0,89$  e  $p<0,05$ ), como mostra a figura 8.



**Figura 8- Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes nas águas da porção insular da Baía Sul e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.**

SILVEIRA JR. e colaboradores (2007) encontraram médias geométricas de coliformes termotolerantes variando entre 2,20 a 4,5 NMP/100mL durante os anos de 2001 a 2006 na Costeira do Ribeirão e percentil 90% não ultrapassando 17NMP/100mL.

RAMOS (2007) ao analisar os mesmos pontos de cultivos encontrou contagens de coliformes termotolerantes variando entre 1,8< a 920 NMP/100mL nestas águas, classificando o ponto E como a região com maiores contagens, e o ponto A como a região com os menores níveis de coliformes termotolerantes da área de estudo. Da mesma forma, a autora constatou a influencia do acumulado pluviométrico semanal e mensal sob estas contagens, embora esses acumulados pluviométricos tenham sido menores na sua época de estudo.

O teste de correlação de Spearman e a regressão linear não demonstraram correlação entre as contagens de coliformes termotolerantes das amostras de águas onde as ostras estavam sendo cultivadas e as contagens na carne das ostras.

Diversos fatores influenciam a carga microbiana do molusco além da carga microbiana da água, sabe-se que parâmetros físico-químicos da água, como

temperatura, salinidade, presença de altas concentrações de bactérias e diversas substâncias podem influenciar na energética de filtração do moluscos.

Um dado coletado de um ponto de monitoramento em um determinado momento será apenas uma indicação do nível de contaminação do local. Variações temporais podem ser influenciadas principalmente pelos efeitos ambientais e variações espaciais podem estar relacionadas com a localização da lanterna dos moluscos no que diz respeito às fontes de contaminação, geografia do local de cultivo e influência das marés. O nível de contaminação também pode variar entre indivíduos e entre diferentes espécies de moluscos. (LEE et al., 2003).

### **Baia Sul lado Continental**

As contagens de coliformes termotolerantes nas seis diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul variaram de <1,8 a >1600 NMP/100mL, sendo que as maiores médias foram detectadas nas regiões 6, 5,e 4, como mostra a tabela 9.

**Tabela 9 - Média geométrica e percentil 90 das contagens de coliformes termotolerantes das amostras de águas salinas nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

<b>Região Cultivo</b>	<b>Média Geométrica (NMP/100mL)</b>	<b>Percentil 90 (NMP/100mL)</b>
<b>1</b>	5,00 <sup>a</sup>	49,00
<b>2</b>	4,46 <sup>a</sup>	33,00
<b>3</b>	4,43 <sup>a</sup>	33,00
<b>4</b>	15,73 <sup>abc</sup>	110,00
<b>5</b>	42,61 <sup>bc</sup>	350,00
<b>6</b>	41,08 <sup>bc</sup>	280,00

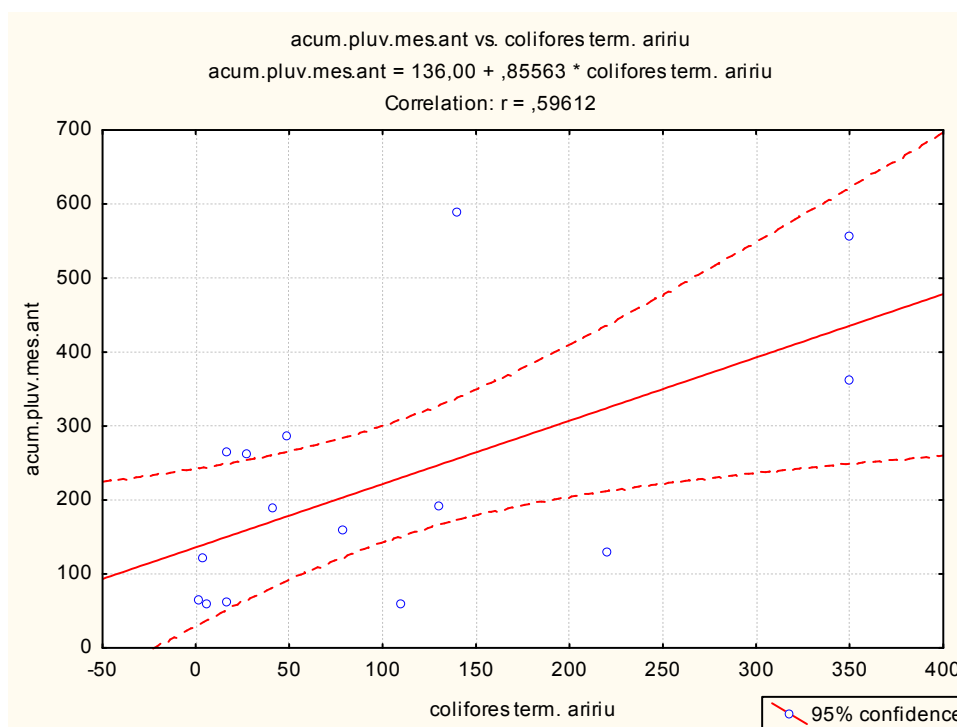
As médias que não possuem letras em comum entre si, apresentam diferença estatística ao nível de 5% (H=29,4699, p<0,05)

Observou-se diferença estatística ( $H=29,4699$ ,  $p<0,05$ ) entre as regiões que apresentaram as maiores contagens, 5 e 6, com as demais regiões, que apresentaram contagens de coliformes termotolerantes bastante reduzidas quando comparadas aos valores destas duas regiões de cultivo.

Correlacionando as contagens de coliformes termotolerantes com os parâmetros físico-químicos analisados, observou-se que a salinidade apresentou correlação estatística (Spearman  $R= -0,53$  e  $p<0,05$ ), assim como os valores de oxigênio dissolvido apresentaram pequena correlação (Spearman  $R= -0,27$  e  $p<0,05$ ) e transparência (Spearman  $R= -0,53$  e  $p<0,05$ ).

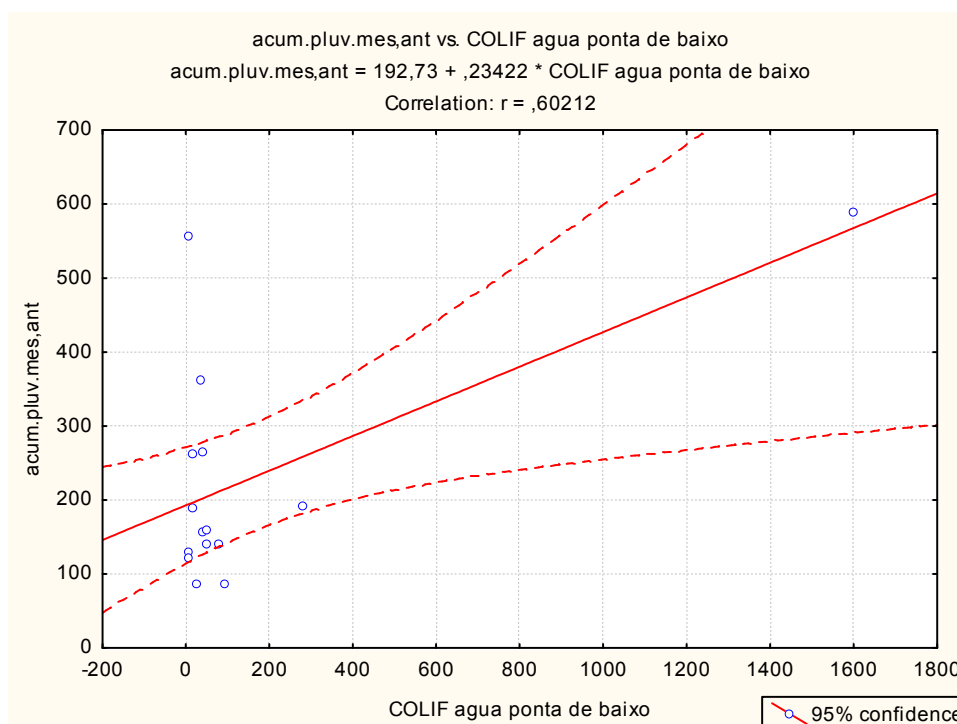
Ao se analisar os pontos de cultivos da porção continental da Baía Sul continental como um todo, conclui-se através da análise de regressão linear, que nem o acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta nem o acumulado pluviométrico do mês anterior a coleta influenciaram as contagens de coliformes termotolerantes.

Porem, ao analisar estas influências em cada ponto de coleta separadamente, observa-se a influência do volume de chuvas na região de cultivo 5, aonde as contagens de coliformes termotolerantes foram influenciadas pelo acumulado pluviométrico da semana anterior (beta= 0,58  $p<0,05$ ) e pelo acumulado pluviométrico do mês anterior (beta=0,59 e  $p<0,05$ ) (figura 9).



**Figura 9- Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes na região de cultivo 5 e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.**

Na região 6, as contagens de coliformes termotolerantes foram influenciadas pelo acumulado pluviométrico do mês anterior a coleta ( $\beta=0,60$  e  $p<0,05$ ), como mostra a figura 10.



**Figura 10 - Correlação bivariada entre as contagens de coliformes termotolerantes na região de cultivo 6 e o acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta.**

As regiões de cultivo 5 e 6 apresentarem contagens médias mais elevadas que as demais regiões, e justamente essas duas regiões sofreram influência dos acumulados pluviométricos e situam-se próximas a desembocadura do rio Cubatão, que se apresenta como o maior aporte de água desaguardo na Baía Sul. O que indica a forte influencia do período de chuvas nas contagens destas bactérias nas duas regiões próximas ao rio.

A Resolução nº 357, de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providencias.

De acordo com o Art. 18, que trata sobre as condições de qualidade das águas salinas de classe I utilizadas para cultivo de moluscos bivalves destinados a alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Dessa maneira, durante o período de análises, dos 12 pontos de cultivo analisados, 4 pontos apresentaram o percentil 90 acima do limite estabelecido, sendo o ponto E localizado na parte insular da Baía Sul e os pontos 4, 5 e 6 na parte continental.

É importante ressaltar que o período de coleta das amostras deste trabalho foi considerado atípico devido à alta incidência de chuvas que ocorreram na região de estudo, que elevaram os acumulados pluviométricos a números recordes e que acabaram por afetar a vazão dos deságües de rios, riachos e esgotos sobre a Baía Sul.

O percentil 90 elevado, neste caso, está indicando a presença de algumas amostras com altas contagens de coliformes termotolerantes, que coincidem com as coletas realizadas nos períodos de maior acumulado pluviométrico registrados.

Alem disso, é sabido que diversos fatores influenciam o conteúdo microbiano de uma amostra, principalmente os fatores ambientais como: episódios de chuvas, mares, correntes marítimas, ventos, estação do ano, temperatura da água, salinidade, entre outros, que alem de afetarem as águas de cultivo, influenciam o período de depuração do molusco. (YOUNGER et al., 2002).

### **5.3.2 *Escherichia coli***

#### **Baía Sul lado Insular**

#### **Ostras**

Foi detectada a presença de *Escherichia coli* em apenas 10 amostras (11,11%) das 90 amostras de ostra analisadas, com contagens variando de <3 a 9MPN/g. A tabela 10 mostra as médias e percentil 90 de *E. coli* nas amostras de ostras provenientes das seis diferentes regiões de cultivo.

**Tabela 10- Média geométrica e percentil 90 das contagens de E.coli nas amostras de ostra das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por grama**

<b>Região Cultivo</b>	<b>Média Geométrica (NMP/g)</b>	<b>Percentil 90 (NMP/g)</b>
<b>A</b>	2,00*	2,00
<b>B</b>	2,13	2,00
<b>C</b>	2,27	4,00
<b>D</b>	2,27	4,00
<b>E</b>	2,93	9,00
<b>F</b>	3,00	4,00

---

\* Não foi confirmada nenhuma cepa de *E.coli*

Não foi observada diferenças estatísticas entre as médias *E. coli* (H=5,1050; p=0,4032) nas diferentes regiões de cultivo,

PEREIRA et al (2006) encontraram valores de coliformes termotolerantes variando de <3 a 93 NMP/g em amostras de ostras coletadas no Ribeirão da Ilha e detectou presença de *E.coli* em 9% das amostras analisadas.

RAMOS (2007) analisou 180 amostras de carne de ostras provenientes da Baía Sul e detectou a presença de *E.coli* em somente 18 amostras.

A região A foi apresentou as menores médias de coliformes termotolerantes nas ostras e não apresentou em nenhuma amostra presença de *E. coli*, e a região da F seguida pela região E apresentaram as maiores incidências destas bactérias, estando de acordo com os dados de RAMOS(2007).

Uma significativa relação positiva foi encontrada entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* (Spearman R=0,661, p>0,05) foi observada, o que



ocorreu devido a alta incidência de *Escherichia coli* no grupo dos coliformes termotolerantes.

Em relação aos parâmetros físico-químicos, as contagens de *E. coli* apresentaram pequena correlação com a temperatura da água (Spearman  $R=0,221$ ,  $p<0,05$ ) e com a salinidade (Spearman  $R=0,308$ ,  $p<0,05$ ).

A análise de regressão linear mostra que as contagens de *E. coli* na parte insular da Baía Sul foram influenciadas pelo acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores a coleta das amostras ( $\beta=0,344$ ,  $p<0,05$ ) e pelo acumulado pluviométrico dos sete dias anteriores ( $\beta=0,330$ ,  $p<0,05$ ).

### **Águas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves**

Foi detectada a presença da bactéria indicadora *Escherichia coli* em 61,1% das amostras de água analisadas, sendo que a região A apresentou o menor número de amostras positivas, de acordo com a tabela 11.

**Tabela 11- Ocorrência de *E. coli* em amostras de água utilizadas para cultivo de moluscos bivalves provenientes da porção insular da Baía Sul**

Região Cultivo	Nº amostras analisadas	Amostras Positivas <i>E. coli</i>	
		Nº	%
A	15	6	40,0
B	15	10	66,7
C	15	9	60,0
D	15	8	53,3
E	15	11	73,3
F	15	11	73,3

As contagens de *Escherichia coli* variaram entre <1,8 a 220 NMP/100mL. Ocorreu uma diferença estatística ( $H=10,0955$  e  $p<0,05$ ) entre as regiões com as maiores e menores contagens: A e E respectivamente, como mostra a tabela 12.

**Tabela 12- Média geométrica e percentil 90 das contagens de E.coli nas amostras de água das diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

Região Cultivo	Média Geométrica (NMP/100mL)	Percentil 90 (NMP/100mL)
A	2,55*	4,50
B	3,49	13,00
C	3,69	11,00
D	4,27	49,00
E	10,36*	210,00
F	4,98	46,00

---

\* Médias apresentam diferença estatística ao nível de 5% ( $H=10,0955$  e  $p>0,05$ )

Correlacionando as contagens de *E. coli* nas águas com os parâmetros físico-químicos, pode-se observar uma fraca correlação negativa com o pH das amostras (Spearman  $R= -0,22$  e  $p<0,05$ ) e boa correlação negativa com salinidade (Spearman  $R= -0,61$  e  $p<0,05$ ).

*Escherichia coli* é a principal bactéria do grupo dos coliformes termotolerantes o que explica a excelente correlação estatística entre as contagens destes dois indicadores (Spearman  $R= 0,98$  e  $p<0,05$ ) nas amostras de água, e da mesma maneira, a semelhante influência do acumulado pluviométrico da semana anterior ( $\beta=0,73$ ,  $p<0,05$ ) e acumulado pluviométrico mês anterior a coleta ( $\beta=0,81$  e  $p<0,05$ ) sob as contagens de *E. coli* nas águas da Baía Sul insular analisadas como um todo.

O teste de Spearman mostrou correlação entre as contagens de *E. coli* na águas e nas ostras (Spearman  $R=0,31$  e  $p<0,05$ ).

## Baia Sul lado Continental

Foi detectada a presença da bactéria indicadora *Escherichia coli* em 75,6% das amostras de água analisadas, sendo que as regiões 4, 5 e 6 apresentaram os maiores números de amostras positivas, de acordo com a tabela 13.

**Tabela 13- Ocorrência de *E. coli* em amostras de água utilizadas para cultivo de moluscos bivalves provenientes da porção continental da Baía Sul**

Região Cultivo	Nº amostras analisadas	Amostras Positivas <i>E. coli</i>	
		Nº	%
1	15	9	60,0
2	15	8	53,3
3	15	8	53,3
4	15	14	93,3
5	15	14	93,3
6	15	15	100,0

As contagens de *Escherichia coli* variaram entre <1,8 a >1600 NMP/100mL. Ocorreram diferenças estatísticas ( $H= 23,16362$  e  $p<0,05$ ) entre as regiões com as maiores e menores contagens, como pode-se observar na tabela 14.

**Tabela 14- Média geométrica e percentil 90 das contagens de *E.coli* nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

Região Cultivo	Média Geométrica (NMP/100mL)	Percentil 90 (NMP/100mL)
1	4,52 <sup>abc</sup>	49,00
2	4,22 <sup>a</sup>	33,00
3	4,18 <sup>a</sup>	33,00
4	11,66 <sup>abc</sup>	49,00

5	22,58 <sup>bc</sup>	110,00
6	25,79 <sup>bc</sup>	280,00

As médias que não possuem letras em comum entre si, apresentam diferença estatística ao nível de 5% (H=23,16362,  $p<0,05$ )

Pode-se observar correlação estatística entre as contagens de *E. coli* nas águas com a salinidade (Spearman  $R = -0,50$  e  $p<0,05$ ), fraca com oxigênio dissolvido (Spearman  $R = -0,22$  e  $p<0,05$ ) e transparência (Spearman  $R = -0,35$  e  $p<0,05$ ).

As amostras apresentaram excelente e já esperada correlação estatística entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* (Spearman  $R = 0,99$  e  $p<0,05$ ) nas amostras de água.

Em relação à influência do volume de chuvas nas contagens de *E. coli*, somente a região 6 foi influenciada ( $\beta = 0,61$ ,  $p<0,05$ ) pelo acumulado pluviométrico do mês anterior a coleta das amostras.

### 5.3.3 Enterococos

#### Baia Sul lado Insular

As contagens de enterococos nas águas dos pontos de cultivo da porção insular da Baía Sul variaram de  $<1,8$  a 210NMP/100mL.

**Tabela 15- Média geométrica e percentil 90 das contagens de Enterococos nas diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

Região Cultivo	Média Geométrica (NMP/100mL)	Percentil 90 (NMP/100mL)
A	2,05	5,60
B	4,36	71,50
C	4,19	59,59
D	4,67	89,50

<b>E</b>	7,87	165,00
<b>F</b>	3,81	66,50

---

Nota: não foi observada diferença estatística entre as médias,  $p > 0,05$ .

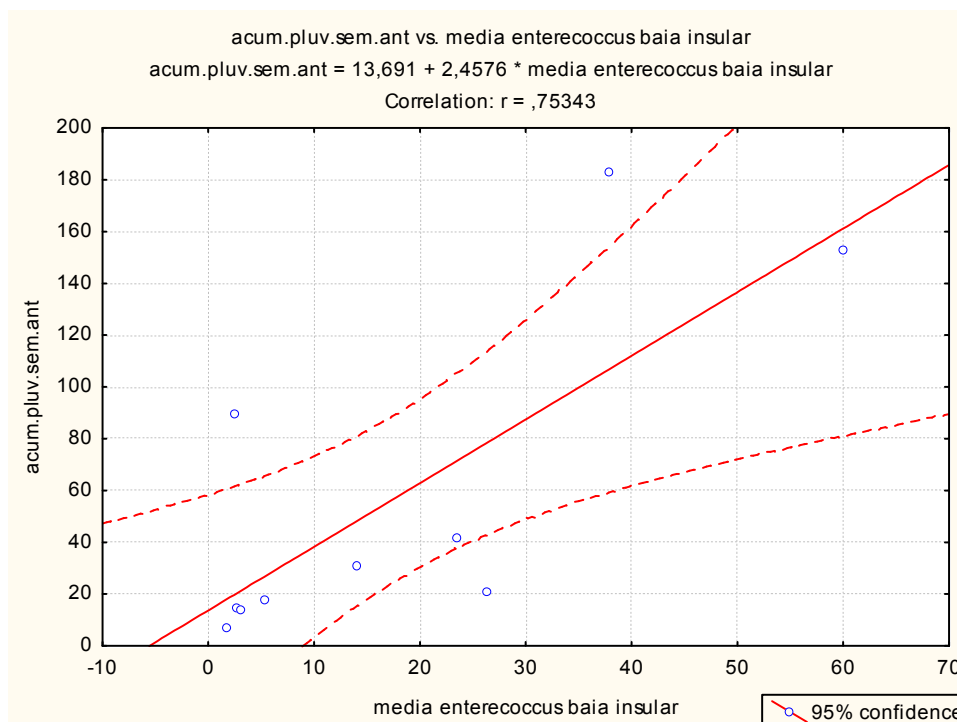
Não foi observada diferença estatística ao nível de 5% ( $H = 6,3519$  e  $p > 0,05$ ) entre as médias das seis diferentes regiões (tabela 15). A região que apresentou as maiores contagens foi a E, seguida pela região D. Todos os pontos apresentaram percentil 90 relativamente alto, com exceção da região A, que apresentou contagens médias e percentil 90 de enterococos bastante inferiores que as demais regiões.

A região D apresentou média e percentil 90% de enterococos mais altos do que a C, e ligeiramente maiores do que as encontradas na região E, o que não aconteceu com os outros indicadores.

As regiões apresentaram valores de percentil 90 elevados quando comparados com valores de médias geométricas.

Ao correlacionar as contagens de enterococos com os parâmetros físico-químicos, observa-se correlação estatística somente com os valores de salinidade (Spearman  $R = -0,49$  e  $p < 0,05$ ).

As contagens de enterococos nas águas da Baía Sul insular também foram influenciadas tanto pelo acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta ( $\beta = 0,753$  e  $p < 0,05$ ) como pelo acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores ( $\beta = 0,712$  e  $p < 0,05$ ), como observa-se na correlação bivariada da figura 11.

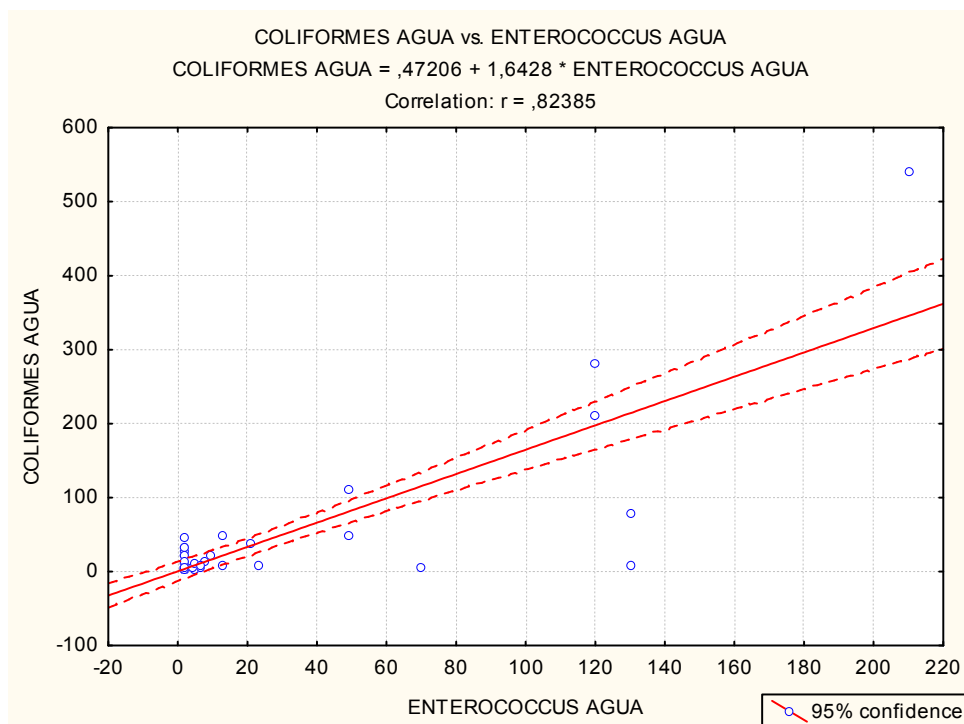


**Figura 11- Correlação bivariada entre as contagens médias de enterococos nas águas da porção insular da Baía Sul e o acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta.**

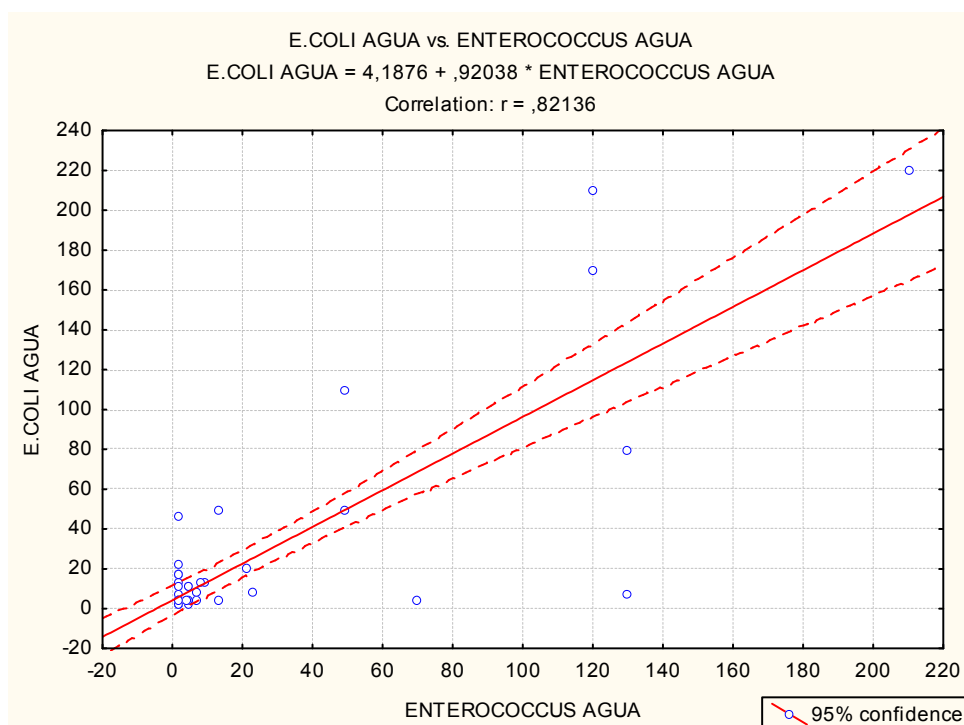
Correlacionando-se as contagens de enterococos e os dois outros indicadores de contaminação fecal pesquisados nos mesmos pontos de cultivo, obtemos através do teste não paramétrico de Spearman uma correlação positiva entre as médias de enterococos com as médias de coliformes termotolerantes (Spearman  $R=0,51$  e  $p<0,05$ ), e da mesma forma, ao se correlacionar as médias de enterococos com as médias de *E. coli* (Spearman  $R=0,57$  e  $p<0,05$ ) nas diferentes regiões de cultivo.

A figura 12 mostra a análise de correlação bivariada entre os níveis de enterococos nas diferentes regiões de cultivo e os de coliformes termotolerantes, que apresentaram alto índice de correlação ( $r = 0,82385$ ,  $p<0,05$ ).

Ao se fazer a mesma correlação entre enterococos e *E. coli* ( $r = 0,82136$ ,  $p<0,05$ ), obtemos uma correlação semelhante, segundo a figura 13.

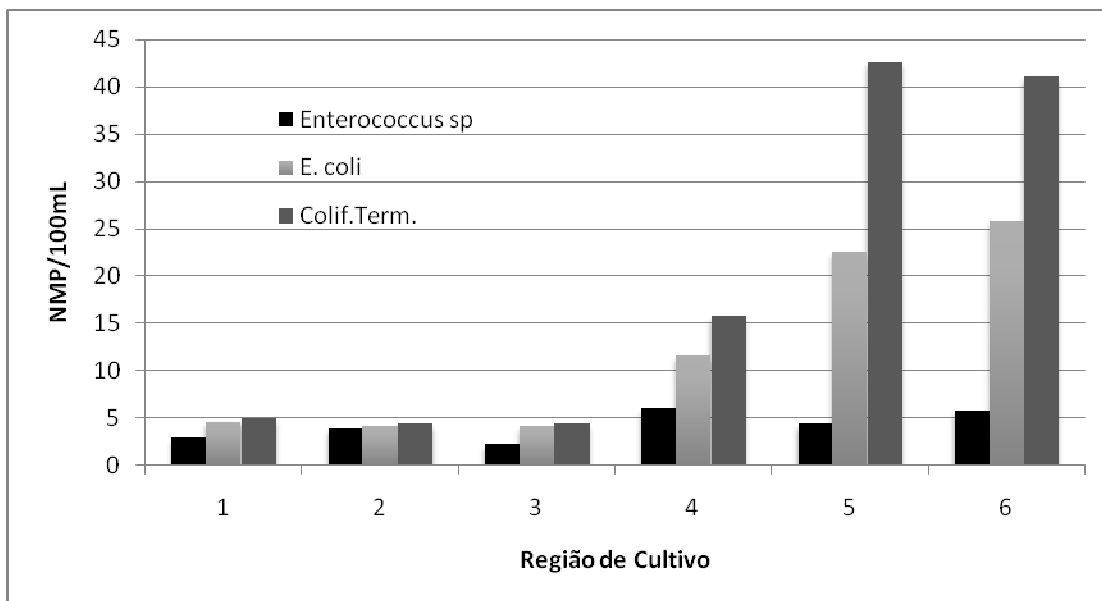


**Figura12 - Correlação bivariada entre as contagens de enterococos e as contagens de coliformes termotolerantes nas águas dos seis diferentes pontos de cultivo analisados na porção insular da Baía Sul.**



**Figura 13- Correlação bivariada entre as contagens de enterococos e as contagens de E. coli nas águas dos seis diferentes pontos de cultivo analisados na porção insular da Baía Sul.**

Dentre as seis regiões geográficas da parte insular da Baía Sul analisadas neste trabalho, o ponto E apresentou as mais altas contagens tanto de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, como de enterococos (figura 14). É possível que o motivo pela maior contaminação desta área seja em decorrência do despejo de esgotos domésticos e outros dejetos, que é agravado pela geografia do local que não permite grande circulação de água, não havendo a suficiente diluição destas bactérias a um nível considerado seguro para o cultivo de moluscos bivalves.



**Figura 14- Incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal nas seis diferentes regiões de cultivo da porção insular da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina em Número Mais Provável por 100mL(NMP/100mL)**

### **Baía Sul lado Continental**

As contagens de enterococos nas águas dos pontos de cultivo da porção continental da Baía Sul variaram de <1,8 a 350 NMP/100mL.



**Tabela 16- Média geométrica e percentil 90 das contagens de enterococos nas diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul em Número Mais Provável (NMP) por 100mL**

<b>Região Cultivo</b>	<b>Média Geométrica (NMP/100mL)</b>	<b>Percentil 90 (NMP/100mL)</b>
<b>1</b>	2,95	17,00
<b>2</b>	3,89	33,00
<b>3</b>	2,22	1,70
<b>4</b>	5,99	69,00
<b>5</b>	4,39	49,00
<b>6</b>	5,79	34,00

---

Nota: não foi observada diferença estatística entre as médias,  $p > 0,05$ .

Não foi observada diferença estatística ao nível de 5% ( $H = 10,8171$  e  $p > 0,05$ ) entre as médias das seis diferentes regiões (tabela 16). A região que apresentou as maiores contagens foi a 6, seguida pela região 5 e 4. A região 3 apresentou as menores médias e percentil 90% de todas as seis regiões estudadas.

Ao correlacionar as contagens de enterococos com os parâmetros físico-químicos, observa-se fraca correlação estatística com os valores de temperatura (Spearman  $R = -0,30$  e  $p < 0,05$ ) e transparência da água (Spearman  $R = -0,41$  e  $p < 0,05$ ).

As contagens de enterococos nas águas da Baía Sul continental não foram influenciadas nem pelo acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta, nem pelo acumulado pluviométrico dos trinta dias anteriores. Foram estudadas estas influências tanto em nível da Baía Sul continental como um todo e cada região separadamente.

Correlacionando-se as contagens de enterococos e os dois outros indicadores de contaminação fecal pesquisados nos mesmos pontos de cultivo, obtemos através do teste não paramétrico de Spearman uma correlação positiva entre as médias de enterococos com as médias de coliformes termotolerantes (Spearman  $R = 0,59$  e  $p < 0,05$ ), e da mesma forma, ao se correlacionar as médias de enterococos com as médias de *E. coli* (Spearman  $R = 0,590$  e  $p < 0,05$ ) nas diferentes regiões de cultivo.

Na análise de correlação bivariada, somente as regiões menos contaminadas (1, 2 e 3) apresentaram correlação entre enterococos e as outras bactérias estudadas (tabela 17).

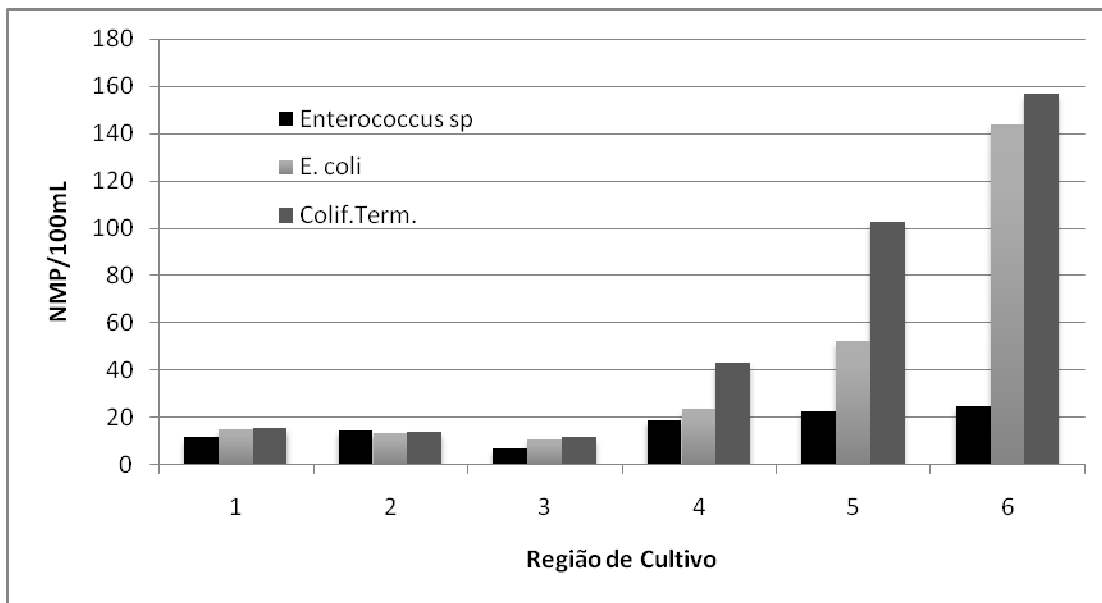
**Tabela 17 - Correlação (r) entre as contagens de enterococos versus coliformes termotolerantes e enterococos versus E.coli em regiões de cultivo de moluscos bivalves da porção continental da Baía Sul**

<b>Região Cultivo</b>	<b>Enterococos e coliformes termotolerantes (r)</b>	<b>Enterococos e <i>Escherichia coli</i> (r)</b>
<b>1</b>	0,897	0,917
<b>2</b>	0,963	0,963
<b>3</b>	0,852	0,855

Das 150 amostras de água salina, nas quais foram realizadas simultaneamente contagens de coliformes termotolerantes e enterococos, pode-se detectar a presença de coliformes termotolerantes em 114 amostras e enterococos em 71 amostras, o que representa uma maior sensibilidade de detecção de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes em relação à detecção de enterococos.

As regiões de cultivo 4, 5 e 6, em ordem crescente, foram consideradas como as regiões que apresentaram as maiores contagens da porção continental da Baía Sul, em relação às três diferentes bactérias indicadoras de contaminação fecal analisadas (figura15).

Através dos resultados obtidos, observa-se que as regiões de cultivo mais contaminadas pelos três diferentes indicadores de contaminação fecal pesquisados estão localizadas na porção continental da Baía Sul.



**Figura 15- Incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal nas seis diferentes regiões de cultivo da porção continental da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, em Número Mais Provável/100mL**

Em ambos os lados da Baía (insular e continental), os pontos que apresentaram maiores contagens de bactérias situam-se mais ao norte da Baía sul.

A entrada das águas ao norte da Baía sul se dá com as águas provenientes da Baía Norte, através de um canal central entre as duas baías, que tem uma largura de 550 metros. Além disso, o Rio Cubatão do Sul aparece na região como um importante aporte de águas, principalmente para esta região. Já a renovação das águas da porção sul acontece normalmente através do canal sul, que se localiza entre a Ponta dos Naufragados e a Ilha do Papagaio Grande, e apresenta largura de 830 metros, por este canal ocorre renovação das águas com oceano atlântico (MOLERI & BONETTI, 2005) como mostra a figura 16.



**Figura 16 - Área da Baía sul mostrando os canais norte e sul**

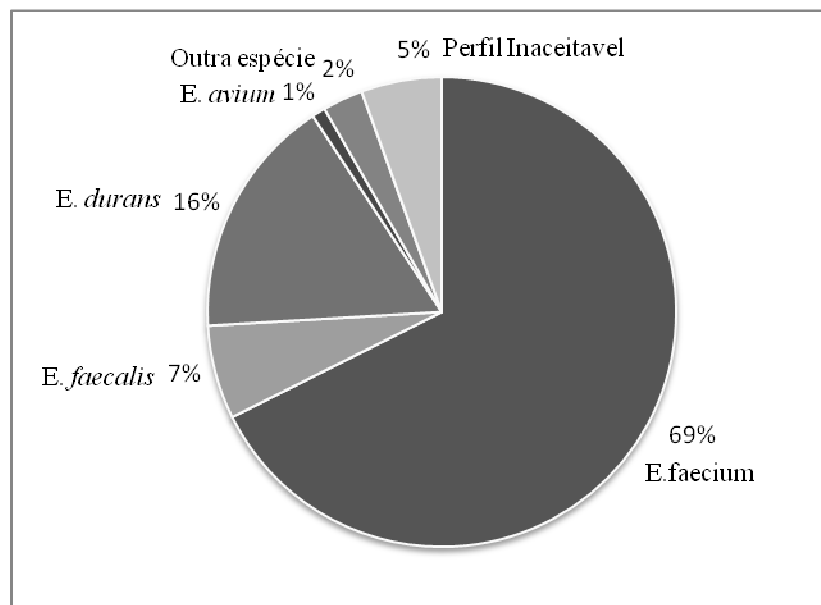
As áreas costeiras situadas mais ao norte da baía sul apresentam-se mais densamente ocupadas, o que sugere maior volume de despejo de esgotos e resíduos nas águas próximas a essas áreas, e os pontos que apresentaram maiores contagens da bactérias pesquisadas situam-se próximos ao antinó das Baías Norte e Sul, que é a região onde se forma uma onda estacionária na Baía, devido ao encontro das duas ondas de maré, formando o tombo de maré (PRUDENCIO, 2003).

#### **5.4 Identificação Taxonômica das Colônias de enterococos**

Um total de 115 colônias identificadas como pertencentes ao grupo Enterococci foram taxonomicamente caracterizadas. A espécie *Enterococcus faecium* foi a mais freqüentemente encontrada nas águas da Baía Sul, sendo identificada em 80 amostras (69%), seguida por *Enterococcus durans* (16%); e *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus avium* somente em 7% e 1% do total. Foram consideradas como

pertencentes a outras espécies 2% das colônias testadas e 5% apresentaram perfil bioquímico inaceitável para classificação.

O perfil de identificação das colônias variou entre BOA a EXCELENTE identificação de acordo com o software do Sistema API 20 STREP. A figura 17 mostra as porcentagens de identificação de espécie das colônias.



**Figura 17- Porcentagem de identificação das espécies de bactérias pertencentes ao gênero enterococos provenientes das águas da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina durante o estudo.**

### **Baía Sul Lado Insular**

Das 116 colônias testadas, 50 são provenientes dos pontos de coleta da parte Insular da Baía Sul. Nesta região ocorreu uma grande predominância de *Enterococcus faecium* (60%) sob as outras espécies: *Enterococcus durans* (16%) e *Enterococcus faecalis* (10%), caracterizadas neste lado da área de estudo.

A região C foi a única região na qual não houve predominância de *Enterococcus faecium*, sendo a maior porcentagem de identificação de *Enterococcus faecalis*. As espécies identificadas nas seis regiões geográficas estão descritas na tabela 18.

**Tabela 18 – Espécies de enterococos identificadas nas seis diferentes regiões de cultivo da Baía Sul lado insular**

<b>Espécie</b>	<b>Região A n=1</b>	<b>Região B n=14</b>	<b>Região C n=6</b>	<b>Região D n=9</b>	<b>Região E n=12</b>	<b>Região F n=8</b>
<i>E. faecalis</i>	0	0	3	1	1	0
<i>E. faecium</i>	1	10	1	5	8	5
<i>E. durans</i>	0	4	0	3	1	0
<b>Perfil Inaceitável</b>	0	0	1	0	2	2
<b>Outra espécie</b>	0	0	1	0	0	1

#### **Baía Sul lado Continental**

Assim como na parte insular, no lado continental houve uma grande predominância de *Enterococcus faecium* (75,8%), seguidos por *Enterococcus durans* (15,2%) e *Enterococcus faecalis* (4,6%). Somente uma amostra proveniente da região 1 foi identificada como *Enterococcus avium*. As espécies identificadas nas seis pontos de coleta estão descritas na tabela 19.

O conhecimento da distribuição dos enterococos em diferentes matrizes é importante para avaliar o valor deste grupo como indicador de contaminação fecal. As espécies *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. durans* são as mais freqüentemente encontradas em fezes humanas; *E. faecium* e *E. faecalis* são as mais comuns em amostras ambientais, nos esgotos urbanos e hospitalares (PINTO et al., 1996; MANERO et al., 2002; BLANCH et al., 2003; RAHIMI et al., 2007; CARUSO, 2008).

**Tabela 19 – Espécies de enterococos identificadas nas seis diferentes regiões de cultivo da Baía Sul lado continental**

<b>Espécie</b>	<b>Região 1 n=5</b>	<b>Região 2 n=12</b>	<b>Região 3 n=6</b>	<b>Região 4 n=13</b>	<b>Região 5 n=11</b>	<b>Região 6 n=18</b>
<i>E. faecalis</i>	1	0	0	2	0	0
<i>E. faecium</i>	2	12	5	7	8	15
<i>E. avium</i>	1	0	0	0	0	0
<i>E. durans</i>	0	0	0	4	3	3
<b>Perfil Inaceitável</b>	1	0	0	0	0	0
<b>Outra espécie</b>	0	0	1	0	0	0

Diversos estudos tem sido publicados em relação à sobrevivência das espécies de *Enterococcus* sp em ambiente aquático, pois é sabido que estas são capazes de ativar estratégias de sobrevivência nas quais a divisão celular se torna restrita, o que permite a elas persistirem em condições ambientais adversas. Dentro destes mecanismos de sobrevivência, o estado VBNC (viable but non culturable) tem sido recentemente descrito como um processo no qual ocorre a manutenção da viabilidade da cepa através da perda da culturabilidade (LLÉO et al., 2005).

*Enterococcus faecium* e *Enterococcus durans* são duas espécies de enterococos que conseguem manter sua culturabilidade durante maior período de tempo em águas salinas (LLÉO et al., 2005), o que possivelmente seja a causa de suas maiores porcentagens de detecção nas amostras de água provenientes do mar.

OLIVEIRA & PINHATA (2008) encontraram predominância de *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. hirae* em amostras de águas salinas provenientes de duas praias de São Vicente (SP); enquanto PINTO e colaboradores (1999) encontraram predominância de *E. faecium* em 82,5% das amostras de água salina analisadas. PAVLOVA et al., 1972 apud CARUSO (2008) demonstrou que em 52,6% de seus isolados de águas marinhas ocorreu a identificação de *E. faecium*, refletindo a alta habilidade deste microrganismo

de sobreviver em ambiente aquático e estando de acordo com as características de espécies encontradas nas águas da Baía Sul.

### **5.5 Teste de Sensibilidade de colônias caracterizadas de enterococos a diferentes antimicrobianos de importância clínica**

O padrão de resistência a antibióticos das colônias de enterococos testadas está descrito na tabela 20. Das 60 amostras testadas, 43 (71,7%) se mostraram resistentes a pelo menos um agente antimicrobiano, e 19 (31,6%) foram resistentes a mais de um agente microbiano. A maior frequência de resistência encontrada foi a rifampicina (35%), tetraciclina (35%) e ciprofloxacino (28,3%).

OLIVEIRA & PINHATA (2008), testando o perfil de sensibilidade aos mesmos antibióticos avaliados neste trabalho, de colônias de *Enterococcus* sp. isoladas de águas salinas provenientes de duas praias de São Vicente (SP), encontrou resistência em 61,5% das colônias testadas, e a maior frequência de resistência foi observada foi a estreptomicina (38,5%), eritromicina (14,5%) e rifampicina (15,4%).

*Enterococcus faecalis* foi a espécie mais resistente a rifampicina (40%) e tetraciclina (60%); enquanto *Enterococcus faecium* foi mais resistente a ciprofloxacino (33,3%). RAHIMI et al., 2007 encontraram altos níveis de resistência a eritromicina, tetraciclina e ciprofloxacino em isolados provenientes de esgotos.

Ocorreu uma alta prevalência de susceptibilidade a amoxicilina + ácido clavulânico (98,3%), ampicilina (98,3%) e vancomicina (83,3%) entre as cepas e resistência intermediária a eritromicina esteve presente em 81,7% das amostras analisadas.

PINTO e colaboradores (1999) também encontraram alta prevalência de susceptibilidade a vancomicina (99%) e ampicilina (97,5%), em cepas provenientes de amostras ambientais, e um padrão semelhante de resistência a tetraciclina.



**Tabela 20- Padrão de resistência a antibióticos das colônias de enterococos isoladas das águas da Baía sul da Ilha de Santa Catarina.**

Antibiótico	<i>E. faecium</i> n=42			<i>E. durans</i> n=13			<i>E. faecalis</i> n=5		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<b>Amox +Ac.Clav.</b>	100% (42)	0% (0)	0% (0)	92,3% (12)	7,7% (1)	0% (0)	100% (5)	0% (0)	0% (0)
<b>Ampicil.</b>	97,2% (41)	0% (0)	2,4% (1)	100% (13)	0% (0)	0% (0)	100% (5)	0% (0)	0% (0)
<b>Ciproflo.</b>	16,6% (7)	50% (21)	33,3% (14)	7,7% (1)	69,2% (9)	23% (3)	0% (0)	80% (4)	20% (1)
<b>Eritrom.</b>	14,3% (6)	78,6% (33)	7,1% (3)	7,7% (1)	84,6% (11)	7,7% (1)	0% (0)	100% (5)	0% (0)
<b>Estreptom.</b>	73,8% (31)	16,7% (7)	9,5% (4)	30,8% (4)	46,2% (6)	23% (3)	60% (3)	20% (1)	20% (1)
<b>Gentam.</b>	76,2% (32)	21,4% (9)	2,4% (1)	38,5% (5)	46,2% (6)	15,4% (2)	40% (2)	60% (3)	0% (0)
<b>Rifamp.</b>	52,4% (22)	11,9% (5)	35,7% (15)	69,2% (9)	0% (0)	30,8% (4)	0% (0)	60% (3)	40% (2)
<b>Tetracicl.</b>	61,9% (26)	9,5% (4)	28,6% (12)	38,5% (5)	15,4% (2)	46,2% (6)	20% (1)	20% (1)	60% (3)
<b>Vancom.</b>	85,7% (36)	14,3% (6)	0% (0)	76,9% (10)	23,1% (3)	0% (0)	20% (1)	80% (4)	0% (0)

Algumas espécies de enterococos são consideradas patógenos oportunistas para humanos e durante as ultimas décadas tem emergido como significante causa de infecções hospitalares devido a sua habilidade de adquirir resistência a glicopeptídeos

como a vancomicina. A habilidade dos *Enterococci* resistentes a vancomicina (ERV) de se propagar em diferentes ambientes e transferir genes de resistência a outras espécies de bactérias, indica que a sua liberação no meio ambiente é um importante motivo de preocupação (NOVAIS et al., 2005).

De acordo com ROSSI & ANDREAZZI (2005) o percentual de infecções nosocomiais causadas por enterococos resistente a vancomicina nos Estados Unidos aumentou significativamente desde seu descobrimento, sendo que em torno de 95% das cepas reconhecidas eram de *Enterococcus faecium*.

Não foi encontrada nenhuma cepa de enterococos resistente a vancomicina, sugerindo uma baixa incidência de ERV nas águas da Baía Sul, o que não confirma, no caso desta região de estudo, o aumento crescente de resistência desta espécie por glicopeptídeos em amostras ambientais (CORSO et al., 2007; IVERSEN et al., 2004; KUHN et al., 2003; RAHIMI, 2007), o que fundamenta a importância da detecção prévia destas bactérias na água para prevenção de surtos de doenças e possibilitar medidas terapêuticas adequadas (CARUSO, 2008).

## **5.6 Avaliação da Qualidade Microbiológica dos Principais Rios e Riachos que deságuam próximos as áreas de cultivo na Baía Sul**

### **Lado Insular**

Foram analisadas 28 amostras de água provenientes de 14 diferentes pontos de deságüe na parte insular da Baía Sul, entre eles, rios e córregos. Ou seja, de cada ponto foi coletado duas amostras de água em datas diferentes. A média de coliformes termotolerantes de todos os pontos de coleta neste lado da Baía sul foi de 562,9 NMP/100mL variando de 11 a > 1600NMP/100mL. Ocorreu presença de *E. coli* em todas as amostras analisadas, com contagens de variando de 7,8 a 1600 NMP/100mL e média de 358 NMP/100mL. Enterococos apresentou alta prevalência nas amostras, com média de 1017,9 NMP/100mL e variação de 4,5 a >1600 NMP/100mL.

Através do Teste não paramétrico de Spearmann, pode-se observar correlação estatística significativa a  $p < 0,05$ , entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* (Spearman  $R = 0,658$ ); coliformes termotolerantes e enterococos (Spearman  $R = 0,523$ ); *E. coli* e enterococos (Spearman  $R = 0,574$ ). A tabela 21 mostra a média das 2 contagens destas bactérias nos 14 diferentes pontos de coleta.

**Tabela 21- Contagem média de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos em NMP/100mL nos 14 diferentes pontos de deságües de água na porção insular da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina.**

<b>Estação de Coleta</b>	<b>Coliformes T.</b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b>Enterococos</b>
<b>1- Rio da Base Aérea</b>	445,0	380,0	1601,0
<b>2 - Rio da Mutuca</b>	824,0	813,0	1601,0
<b>3 - Rio Alto Ribeirão</b>	940,0	940,0	975,5
<b>4 - Rio da Oficina de Bike</b>	278,5	273,9	840,0
<b>5 - Rio da Capelinha</b>	50,5	48,0	96,5
<b>6 - Rio Riacho Doce</b>	1015,5	320,0	1601,0
<b>7 - Rio do Sandrini</b>	1260,5	410,0	1260,5
<b>8 - Rio da Casan</b>	16,5	14,0	195,0
<b>9 - Rio do Manguezinho do Eduardo</b>	186,5	186,5	335,0
<b>10 - Rio do Júlio</b>	260,0	260,0	1601,0
<b>11 - Rio Igreja da Costeira Ribeirão</b>	940,0	940,0	1600,5
<b>12 - Rio da Sorveteria da Costeira</b>	730,0	330,0	1601,0
<b>13 - Rio da Taperinha</b>	23,0	23,0	802,2
<b>14 - Rio da Caieira</b>	910,5	73,9	140,5

Os maiores focos de contaminação desaguando na porção insular da Baía Sul foram os pontos 2, 3, 6, 7 e 11.

Os pontos de deságüe 2 e 3 estão localizados próximos a região de cultivo E deste estudo. Esta contaminação reflete diretamente sob a qualidade da água utilizada para cultivo de moluscos nesta região, que apresentou as maiores contagens de coliformes termotolerantes durante o período deste estudo da porção insular da Baía Sul.

O ponto E está localizado numa região bastante povoada na qual grande parte do esgoto das casas é lançado ao mar devido à inexistência de um sistema de coleta e tratamento de esgoto; além disso possui um tipo de recorte geográfico na sua costa que impossibilita adequada renovação da água no local.

O ponto 3 corresponde ao desemboque do Rio Alto Ribeirão (figura 18), um dos rios com maior vazão que desembocam na região do Ribeirão da Ilha. De acordo com as observações de LOGULLO (2005), este rio apresenta tubulações de esgoto sendo diretamente ligadas no corpo d'água, ao longo de todo seu percurso, assim como ocorre em vários pontos da orla do Ribeirão da Ilha.



**Figura 18- Rio Alto Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr**

Os pontos de deságüe 6 e 7 estão localizados na região da Freguesia do Ribeirão e possuem péssima aparência e odor e evidenciam uma região carente de serviços públicos, com ocupações irregulares e recursos hídricos prejudicados, como mostra as figuras 19 e 20.



**Figura 19- Ponto de deságüe 6, localizado na Freguesia do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr**



**Figura 20- Ponto de deságüe 7, localizado na Freguesia do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr**

O ponto de deságüe 11 (figura 21), que apresentou as maiores incidências de bactérias indicadoras, dentre os pontos analisados, e batizado neste trabalho como Rio da Igreja da Costeira do Ribeirão, localiza-se na Costeira do Ribeirão.



**Figura 21- Ponto de deságüe 11, localizado na Costeira do Ribeirão - Foto Nelson Silveira Jr**

Em relação aos parâmetros físico-químicos, a temperatura da água nestes pontos variou de 15,3 a 26,2°C, com média de 19,6°C, sendo que as coletas foram realizadas nos meses de maio e junho de 2009. A amplitude de pH variou entre 6,43 e 8,52 com média de 7,09. O oxigênio dissolvido nestas águas variou de 0,35 a 16,10 mg/L e a média de todas as amostras foi de 5,31mg/L. A salinidade apresentou variação de 0 a 33 ups entre as diferentes amostras analisadas e média de 5,21 ups.

Correlacionando as contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos com os parâmetros físico-químicos: salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido e pH não foi possível observar correlação estatística entre estes.

Através de análise de regressão linear, foi possível perceber a influencia do acumulado pluviométrico da semana e do mês anterior a coleta sob as contagens de *E. coli* ( $\beta=0,413$ ,  $p<0,05$ ) nas amostras analisadas.

Através do Sistema API 20 STREP da Biomerieux foram testadas 28 colônias bioquimicamente confirmadas como sendo *Enterococcus* sp. Destas, 27 pertenciam a espécie *Enterococcus faecium* e somente uma colônia foi identificada como *Enterococcus durans*, seguindo a mesma tendência de abundancia de espécies encontrada nas águas dos pontos de cultivos da Baía Sul, indicando também estes pontos de deságüe como a fonte de contaminação das águas da Baía Sul.

### **Lado Continental**

Foram analisadas 24 amostras de água provenientes dos 8 principais rios que deságuam na porção continental da Baía Sul, sendo três amostras coletadas de cada ponto. A tabela 22 mostra a média das 3 contagens destas bactérias indicadoras nos 8 diferentes pontos de coleta.

**Tabela 22 - Contagem média de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos em Número Mais Provável/100 mL nos principais tributários de água da porção continental da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina nos meses de maio, junho e julho de 2009.**

Estação de Coleta	Coliformes T.	<i>E. coli</i>	Enterococos
Rio Maciambú	120,0	122,0	64,0
Rio Enseada Brito	338,7	338,7	596,0
Rio Cambirela	1374,0	730,0	1374,0
Rio da Praia de Fora	117,0	47,0	625,0
Rio Cubatão Sul	866,7	566,0	109,3
Rio Aririú	224,7	207,7	19,3
Rio do Curtume	365,7	115,7	210,7
Rio Maruim	623,0	232,7	1247,0

A média de coliformes termotolerantes de todos os pontos de coleta neste lado da Baía foi de 503,7 NMP/100mL variando de 4 a > 1600NMP/100mL. Ocorreu presença de *E. coli* em todas as amostras analisadas, com contagens de 4 a >1600 NMP/100mL e média de 294,9 NMP/100mL. Enterococos apresentou média de 530,7 NMP/100mL e variação de 7,8 a >1600NMP/100mL entre as amostras analisadas.

Através do Teste não paramétrico de Spearman, pode-se observar correlação estatística significativa a  $p < 0,05$ , entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* (Spearman  $R = 0,88$ ); coliformes termotolerantes e enterococos (Spearman  $R = 0,49$ ); *E. coli* e enterococos (Spearman  $R = 0,49$ ).

O Rio Cambirela (figura 22) apresentou-se como a estação de coleta na qual foram identificadas as maiores contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos, podendo ser classificada, dentre os pontos analisados, como o deságüe de maior contaminação na porção continental da Baía Sul, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho.



**Figura 22- Rio Cambirela em período de maré baixa (esquerda) e maré alta (direita). Foto Nelson Silveira-Jr**

As principais contribuições de água doce para a Baía Sul provem do Rio Tavares, na Ilha de Santa Catarina; dos rios Cubatão do Sul, Aririu, Maciambu e Maruim, no continente. A Bacia Hidrográfica do Rio Cubatão do Sul, com cerca de 900 km<sup>2</sup>, é a que possui maior densidade de drenagem, o que influencia, direta ou indiretamente, a distribuição dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sedimentológicos da porção Norte da Baía Sul (KOBAYAMA & OLIVEIRA, 1999).

O Rio Cubatão do Sul, ao desaguar na Baía Sul forma em sua foz um ecossistema de manguezal, conhecido como Manguezal da Palhoça. Abastece toda a região da Grande Florianópolis, Santo Amaro, Palhoça e tem suas águas comprometidas pelo lançamento de efluente industrial, esgotos e agrotóxicos, de acordo com o Diagnóstico Geral das Bacias Hidrográficas do Estado de Santa Catarina da Secretaria do Estado do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente, 1997.

Os resultados de coliformes termotolerantes e *E. coli* das amostras de águas provenientes do Rio Cubatão refletem alto grau de contaminação sendo introduzido, diluído e conseqüentemente influenciando a Baía Sul, pois o principal aporte fluvial da Baía Sul é proveniente da bacia hidrográfica do Rio Cubatão do Sul.

Assim como o Rio Cubatão, o Rio Maruim (figura 23) apresentou-se como um dos pontos de maior contaminação que deságuam na Baía Sul, neste estudo. A bacia hidrográfica do rio Maruim drena a maior parte do município de São José, o extremo Sul do município de Biguaçu, a porção Norte/Nordeste do município de Palhoça e a pequena parte Norte/Nordeste do município de Santo Amaro da Imperatriz e totaliza uma área de 190,342 Km<sup>2</sup>. Por não haver saneamento básico, os efluentes são jogados

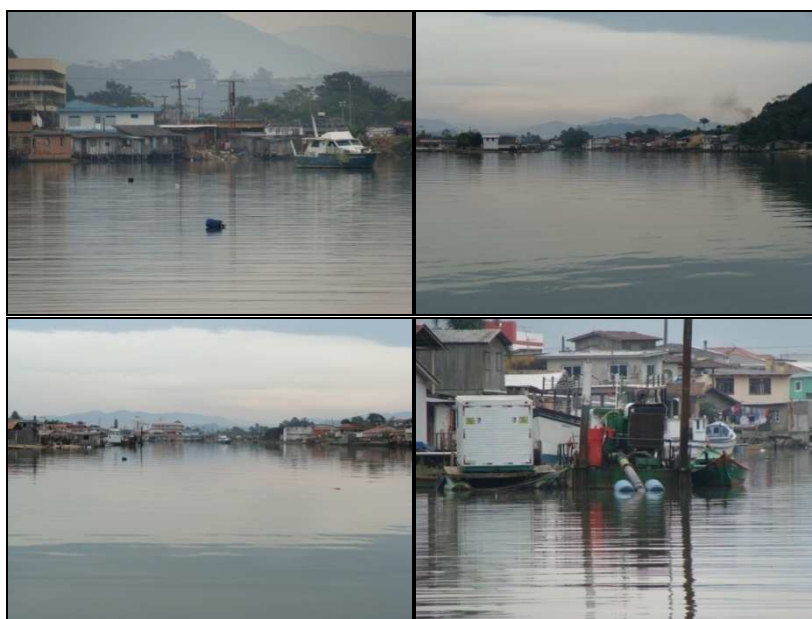


diretamente no Rio Maruim, o que caracteriza uma poluição direta que é incrementada com o aumento da urbanização.

CARDOZO (2006) ao fazer a análise da qualidade da água no Rio Maruim, pode visualizar que em um período de 10 anos, 1994-2004, o nível de poluição aumentou drasticamente.

Essas modificações derivam de vários processos transformadores do meio, entre eles, a ocupação humana em lugares impróprios para a moradia, a substituição dos materiais naturais pelos materiais urbanos, os desmatamentos que dão lugar a outras ocupações, a modificação de sistemas naturais como a canalização e retificação do leito dos rios e, principalmente, o despejo inadequado de efluentes nas águas.

No mesmo estudo de CARDOZO (2006), percebeu-se um aumento significativo da população nos anos de 1980 e 2005 no Município de São José, que é o segundo Município de maior densidade demográfica do Estado. A análise da qualidade da água, realizada em 1994 e 2004, revelou um aumento significativo da poluição, com a diminuição do oxigênio dissolvido e o aumento de outros poluentes como nitritos, fosfatos, coliformes termotolerantes e metais pesados. Observou-se que quase todo o curso do rio Maruim é afetado pela poluição, sendo que os resultados vieram a comprovar o alto grau de comprometimento do rio, principalmente próximos à foz.



**Figura 23- Ocupação das margens do Rio Maruim (Foto Nelson Silveira-Jr)**



A temperatura da água nestes pontos variou de 18,5 a 25,8°C, com média de 22°C, sendo que as coletas foram realizadas nos meses de abril, maio e junho de 2009. A amplitude de pH variou entre 6,84 e 8,69 com média de 7,66. A salinidade apresentou variação de 2 a 35 ups entre as diferentes amostras analisadas e média de 15,63 ups.

O oxigênio dissolvido nesta águas variou de 4,12 a 10,87 mg/L e a média de todas as amostras foi de 7,38mg/L. Descargas de efluentes ricos em matéria orgânica podem causar o decréscimo da concentração de O.D., podendo inclusive levar a condições anaeróbicas. Concentrações de OD inferiores a 5mg/l podem causar efeitos adversos em comunidades biológicas, e concentrações inferiores a 2mg/l podem causar a morte de peixes.

Correlacionando as contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos com os parâmetros físico-químicos, foi possível observar correlação estatística a  $p < 0,05$  entre: coliformes termotolerantes e salinidade (Spearman  $R = -0,53$ ); *E. coli* e salinidade (Spearman  $R = -0,45$ ). O pH das amostras esteve correlacionado com as três bactérias indicadoras pesquisadas: coliformes termotolerantes (Spearman  $R = -0,66$ ); *E. coli* (Spearman  $R = -0,53$ ); e enterococos (Spearman  $R = -0,55$ ).

Através de análise de regressão linear, não foi possível perceber a influência do acumulado pluviométrico da semana nem do mês anterior a coleta sob as contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos nas amostras analisadas, da mesma maneira como quando analisados os pontos de cultivo da porção continental como um todo. Porém analisando cada rio separadamente, observa-se a influência do acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta sob as contagens de:

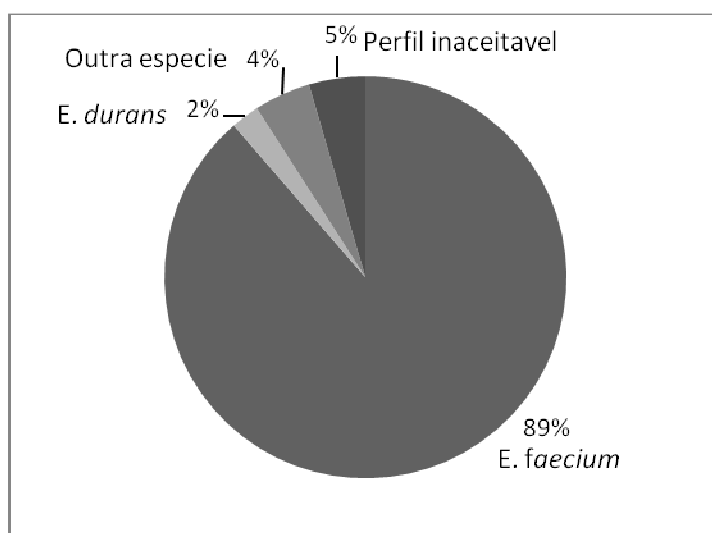
- Coliformes termotolerantes ( $\beta = 1,00$ ,  $p < 0,05$ ) do Rio Maruim;
- *E. coli* ( $\beta = 0,98$ ,  $p < 0,05$ ) no Rio Cubatão;
- Coliformes termotolerantes ( $\beta = -1,00$ ,  $p < 0,05$ ) e enterococos ( $\beta = -1,00$ ,  $p < 0,05$ ) no Rio Cambirela;
- Enterococos ( $\beta = -1,00$ ,  $p < 0,05$ ) no Rio Maciambu.

Foram testadas 16 colônias de *Enterococcus* sp através do sistema API 20 STREP da Biomerieux, 12 (75%) colônias identificadas como sendo da espécie

*Enterococcus faecium*, 2 (12,5%) colônias apresentaram perfil inaceitável para classificação em alguma espécie e 2 (12,5%) colônias foram identificadas como sendo de outras espécies que não do grupo dos *Enterococcus* sp.

Foi detectada a presença de coliformes termotolerantes e enterococos em todas as amostras de água provenientes dos deságües analisados, indicando a mesma sensibilidade para detecção de ambos os grupos de bactérias.

Ao se analisar as espécies de enterococos que estiveram presentes nas amostras de águas provenientes dos 22 diferentes pontos de deságüe da Baía Sul, temos a predominância de *E. faecium* em 89% das colônias analisadas, como mostra a figura 24.



**Figura 24- Porcentagem de identificação das espécies de bactérias pertencentes ao gênero enterococos provenientes dos pontos de deságüe de águas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina durante o estudo.**

A predominância de *E. faecium* nas águas tanto da Baía quanto nos pontos de deságüe analisados, indica que a procedência destas bactérias é o despejo de efluentes e esgoto não tratado nos rios e córregos que tributam suas águas para a Baía.

Áreas costeiras são potencialmente afetadas por constantes influxos de água contaminada provenientes de rios ou esgotos (com ou sem tratamento adequado), o que pode limitar atividades como recreação e aqüicultura (LIPP et al., 2001).

O real impacto das descargas intermitentes de diversos tipos de esgoto sob moluscos bivalves (que primeiro concentram e depois depuram as bactérias de origem fecal) ainda é uma lacuna a ser preenchida para a comunidade científica e para os órgãos regulatórios, no sentido de manter a qualidade deste tipo de alimento (KAY et al., 2008).

Alem disso, a compreensão limitada do comportamento hidrodinâmico das baías e ambientes semiconfinados não é suficiente para uma descrição satisfatória dos processos de dispersão de substâncias dissolvidas neste corpo d'água. De qualquer maneira, se faz necessário um estudo mais abrangente envolvendo profissionais de diversas áreas para permitir um gerenciamento apropriado de um corpo d'água da importância e complexidade deste.

## 6. Conclusões

- Ao pesquisar a incidência de bactérias indicadoras de contaminação fecal em 12 diferentes regiões de cultivo de moluscos bivalves situados na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, pode-se concluir que as águas da região A apresentaram as menores contagens destas bactérias, e que nas águas da região 6 encontram-se as maiores incidências das bactérias indicadoras pesquisadas.

- As amostras de carne das ostras analisadas apresentaram contagens bastante baixas de coliformes termotolerantes e *E. coli* em todas as regiões pesquisadas;

- As amostras de água apresentaram poucas contagens com valores altos das bactérias indicadoras, que estão relacionados com os períodos de grande incidência de chuvas na Grande Florianópolis;

- Observou-se correlação estatística significativa a 5% entre as contagens de *E. coli* nas águas utilizadas para cultivo de moluscos e na carne das ostras;

- Enterococos, coliformes termotolerantes e *E. coli* apresentaram correlação estatística significativa a 5% nas amostras de água analisadas;

- Ocorreu uma maior incidência na detecção de coliformes termotolerantes do que enterococos nas águas salinas,

- A salinidade foi o parâmetro físico-químico que mais esteve correlacionado com as contagens das bactérias;

- O acumulado pluviométrico do mês e da semana anterior a coleta teve influência sob as contagens médias das bactérias nas águas salinas; e sobre as contagens de *E. coli* nas amostras de ostras;

- *Enterococcus faecium* foi a espécie mais encontrada dentre as colônias de *Enterococcus* sp identificadas, tanto nas águas salinas da Baía Sul, quanto nas águas dos rios e córregos analisados;

- Os rios e córregos que deságuam na Baía Sul apresentaram contagens de coliformes termotolerantes, *E. coli* e enterococos bastante variáveis entre si, e mais elevadas do que as contagens destas bacterias nas águas salinas;

- Nenhuma das espécies de enterococos que tiveram seu perfil de resistência a antibióticos testado apresentou resistência a vancomicina;

- A Baía Sul é ambiente semi-confinado em constante modificação devido ao fato de estar exposta às mais diferentes condições de variações ambientais como: ventos, marés, correntes marinhas, chuvas, entre outros. Dessa forma, é necessário um extenso monitoramento de todas as suas variáveis, durante um longo período de tempo para que se possa classificar as suas áreas como em “aptas ou não”, “seguras ou não” para o cultivo de moluscos bivalves, assim como fizeram os países que tem tradição e são referência nesta área da maricultura.

## 7. Referências Bibliográficas

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA - BRASIL. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. **Diário Oficial. Brasília**, 1 de janeiro de 2001.

AHMED, W., NELLER., R. & KATOUBI, M. Host species-specific metabolic fingerprint database for Enterococci and *E. coli* and its application to identify sources of fecal contamination in surface water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p.4461-4468, 2005.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION -APHA. AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA, WATER ENVIRONMENT FEDERATION - WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21 ed, Ed. Washington, 1336p., 2005.

BASTOS, R.K.S., et al. Coliformes como indicadores de qualidade das águas: alcance e limitações. In: Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 27, 2000. Porto Alegre. **Anais do Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitaria e Ambiental, v. 4, p.1-11, 2000.

BEIRAO, L.H., TEIXEIRA, E., BATISTA, C.R.V. et al. Tecnologia pós-captura de pescados e derivados. In: POLI, C.R; BASSANELI, A.T., ANDREATTA, E.R; BELTRAMI, E. et al. **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Ed. Multifatorial. Florianópolis, Brasil, p. 407-440, 2004.

BESSEN, K. Avaliação comparada de variações temporais de características físico-químicas da água do mar em áreas de produção de moluscos de Santa Catarina-Brasil. Florianópolis, 2005. **Dissertação de Mestrado em Aqüicultura**, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, 2005.

BLANCH, A.R., CAPLIN, J.L., IVERSEN, A., KUHN, I., MANERO, A., TAYLOR, H.D. AND VILANOVA, X. Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions, **J. Appl. Microbiol.**, v.94, p. 994-1002, 2003.

BURKHARDT, W. 3rd, CALCI, K.R. Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. **Appl. Environ Microbiol**, v. 66, p. 1375-78, 2000.

BUTT, A.A., ALGRIDGE, K.E., SANDERS, C.V. Infections related to the ingestion of seafood. Part I: viral and bacterial infections. **The Lancet Infections Diseases**, v.4, p. 201-212, 2004.

CABRERA-GARCIA, M.E., VAZQUEZ-SALINAS, C. & QUIÑONES-RAMIREZ, E.I. Serological and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and fish products of the Gulf of México. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, p. 6401-6406, 2004.

CARDOZO, F. S., O uso do geoprocessamento como ferramenta nas análise dos impactos ambientais em decorrência da evolução urbana no Rio Maruim, São Pedro de Alcantra, e São Jose, SC, **Anais do III Simpósio Regional de Geoprocessamento e Sensoriamento Remoto**, Aracaju/SE, 2006. [Disponível on-line via [http://www.cpatc.embrapa.br/labgeo/srgsr3/artigos\\_pdf/003\\_t.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/labgeo/srgsr3/artigos_pdf/003_t.pdf)]

CARUSO, G., MONTICELLI, L.S., CARUSO, R., BERGAMASCO, A. Development of a fluorescent antibody method for the detection of *Enterococcus faecium* and its potencial for coastal aquatic environment monitoring. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, p. 318-324, 2008.

CECA/FNMA, Uma cidade numa ilha: relatório sobre os problemas socioambientais, 1996.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Foodborne Outbreaks Response and Surveillance Unit - Outbreaks United States, 2000–2005. [online] **disponível na internet** via [http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us\\_outb](http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us_outb). Capturado em 17/11/2008

CETINKAIA, Y., FALK, P., MAYHALL, C.G. Vancomycin-resistant enterococci. **Clin Microbiol. Rev.**, v.13, p. 686-707, 2000.

COMPANIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Variáveis de qualidade das águas. [on-line] **disponível na internet** via [WWW.cetesb.gov.br](http://WWW.cetesb.gov.br). Capturado em 04/05/2009.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. Dispõe sobre a qualidade das águas de balneabilidade e alerta o disposto na Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 8 jan. 2001.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 março de 2005.

CORSO AC, GAGETTI PS, RODRÍGUEZ MM, MELANO RG, CERIANA PG, FACCONI DF, GALAS MF; VRE ARGENTINEAN COLLABORATIVE GROUP, Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Argentina. **Int J Infect Dis.**, v.11, p. 69-75, 2007.

COOK, D.W. Microbiology of bivalves molluscan shellfish. In: Ward, D.R.; Hackney, C.(eds). *Microbiology of marine food products*. New York: Van Nostrand Reinhold, USA, cap.2, p. 19-34, 1991.

CRUZ, O. A Ilha de Santa Catarina e o continente próximo; um estudo de geomorfologia costeira. **Editores da UFSC**, Florianópolis, Brasil. 276p. 1998.

CURTUS, A.J.; SEIBERT, E.L.; FIEDLER, H.D.; FERREIRA, F.F.; VIEIRA, P.H.F. Avaliando a contaminação por elementos traço em atividades de maricultura. Resultados parciais de um estudo de caso realizado na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Química Nova**, v. 26, p.44-52, 2003.

DOMIG K.J, MAYER, H.K., KNEIFEL W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 1 – Média for isolation and enumeration. **Int. J. Food Microbiol.**, v.88, p. 147-164, 2003.

DRIDER, D. et al. The continuing story of class IIa bacteriocins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 70, p.564-582, 2006.

EFSTRATIOU, M.A, MAVRIDOU, A.& RICHARDSON, C. Prediction of *Salmonella* spp in seawater by total e faecal coliforms and Enterococci. **Marine Pollution Bulletin**, v.58, p. 201-205, 2009.



EUROPEAN UNION - EU 2006, DIRECTIVE 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council concerning the management of bathing water quality. **Official Journal of the European Communities** L64, p. 37-51, 2006.

FAO 2008. The state of world fisheries and aquaculture 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. **Disponível em:** [http://www.globefish.org/files/Sunken%20Billions%20Report%20Advance%20Edition\\_659.pdf](http://www.globefish.org/files/Sunken%20Billions%20Report%20Advance%20Edition_659.pdf). Acesso em 28/05/09.

FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborn disease. **Microbes and Infections**, v.2, p. 1651-1660, 2000.

FERREIRA, J.F. & MAGALHÃES, A.R.M. Cultivo de mexilhões. In POLI, C.R., POLI, A.T.B.; ANDREATA, E. & BELTRAME, E. (organizadores). Aquicultura: Experiências Brasileiras. **Multifatorial Editora**. Florianópolis, 456 p.,2004.

FERREIRA, J.F. & OLIVEIRA-NETO, F.M., 2007. Cultivo de Moluscos em Santa Catarina. [online] **Disponível na internet via** <http://www.cca.ufsc.br/~jff/disciplinas/cultivodemoluscos/pdf/Cultivo%20de%20Moluscos%20em%20Santa%20Catarina%202006.pdf>. Capturado em 07/05/2009.

FIELD, K.G. & SAMADPOUR, M. Fecal source tracking, the indicator paradigm, and managing water quality. **Water Research**, v. 41, p. 3517-3538, 2007.

FRANKLIN-SILVA, L.; BONETTI FILHO, J.1; BONETTI, C.1 & MARINO M. Parametros físico-químicos da coluna d'água da Baía sul da Ilha de Santa Catarina , **Anais da XIV Semana Nacional de Oceanografia**, Rio Grande, RS, 2001.

FRANZ, C.M.A.P., HOLZAPFEL, W.H. & STILES, M.E. Enterococci at the crossroad of the food safety? **International Journal of Food Microbiology**, v. 47, p. 1-24, 1999

GALVÃO, J.A. Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba, SP. São Paulo, 2004. 109 p. **Dissertação (Mestrado)**. Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz" - Universidade de São Paulo – USP, 2004.

GAPLAN. Atlas de Santa Catarina. **Florianópolis** - SC.1986. 173p.

GERSBERG, R.M., ROSE, M.A., et. al., Quantitative detection of Hepatitis A and enteroviruses near the United States-Mexico boarder and correlation with levels of fecal indicator bactéria, **Applied Environ Microbiol.**, v.72, p. 7438-7444, 2006.

GIRAFFA, G. Enterococci from foods. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 26, p. 163-171, 2002.

GOMES, B.C. *Enterococcus* em amostras de alimentos e águas: avaliação da virulência e do desempenho como indicadores de higiene. 2007. 151f. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

HORNER et al. Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitario de Santa Maria. **J. Patol. Med Lab.** v. 41, p. 391-395, 2005.

HUSS, H.H.; REILLY, A. & EMBAREK, P.K.B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, v.11, p.149-156, 2000.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods/ Microorganisms in Foods. V.6, Microbiological ecology of food commodities. 2 edition, **Blackie Academic and Professional**, 2005.

IVERSEN A, KÜHN I, RAHMAN M, FRANKLIN A, BURMAN LG, OLSSON-LILJEQUIST B, TORELL E, MÖLLBY R. Evidence for transmission between humans and the environment of a nosocomial strain of *Enterococcus faecium*, **Environ Microbiol.**v.6(1), p.55-59, 2004.

JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6 ed., Porto Alegre: **Artmed**, 711p. 2005.

KAY, D., KERSHAW, S., LEE, R., et al. Results on Field investigations into the impact of intermitent sewage discharges on the microbiological quality of wild mussels (*Mytilus edulis*) in a tidal estuary. **Water Research**, v. 42, p. 3033-3046, 2008

KETLER, G.A & MARVIN, H.J.P. Indicators of emerging hazards and risks to food safety. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1022-1039, 2009.

KOBYIAMA, M., OLIVEIRA, S.M. Discharge and water quality of the Cubatao river, Santa Catarina State, Brazil, **Rev. Setor Ciencias Agrarias UFPR**, v.18, p. 23-28, 1999.

KÜHN I, IVERSEN A, BURMAN LG, OLSSON-LILJEQUIST B, FRANKLIN A, FINN M, AARESTRUP F, SEYFARTH AM, BLANCH AR, VILANOVA X, TAYLOR H, CAPLIN J, MORENO MA, DOMINGUEZ L, HERRERO IA, MÖLLBY R. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment-a European study, **Int J Food Microbiol.** v.88, p.133-45, 2003.

LANDGRAF, M. Microrganismos Indicadores. In: Microbiologia de Alimentos. FRANCO, B.D.G.M. & LANDGRAF, M. (organizadores). São Paulo, **Ed Ateneu**, 142 p. 2005.

R. LEE, D. KAY, R.J. WILKINSON, L. FEWTRELL, C. STAPLETON, Impact of Intermittent Discharges on the Microbial Quality of Shellfish, Environment Agency R&D Technical Report P2-266/TR, 48 p, 2003.

LENOCH, R. Saúde Publica e Moluscos Marinhos Cultivados. **Gerenciamento Costeiro Integrado**, UNIVALI, Itajai/SC, v. 3, p. 15 - 17, 10 ago. 2004.

LLEO, D. M.; BONATO, B.; BENEDETTI, D.; CANEPARI, P. Survival of enterococcal species in aquatic environments. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 54, p.189–196, 2005.

LIPP EK, FARRAH SA, ROSE, JB. Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community. **Marine Pollution Bulletin** 42:286-293, 2001

MACHADO, I.C.; PAULA, A.M.R.; BUZZO, A.; JAKABI, M.; RISTORI, C.; SAKUMA, H. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário da Cananéia, como subsídio para extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*). 2-Análise da ostra (tecidos moles e liquido intervalar). **Higiene alimentar**, 15: 44-48, 2001.

MANERO, A., X. VILANOVA, M. CERDA-CUELLAR, AND A. R. BLANCH. Characterization of sewage waters by biochemical fingerprinting of enterococci. **Water Res.** v.36, p. 2831-2835, 2002.

MARINO, A., LOMBARDO, L., FIORENTINO, C. et al. Uptake of *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* non-O1 and *Enterococcus durans* by, and depuration of mussels (*Mytillus galloprovincialis*). **International Journal of Food Microbiology**, v.99, p. 281-286, 2005.

MARTINEZ, O.C. & RODRIGUES, L.M. Manual de buenas practicas de producción acuicola de moluscos bivalvos para la inocuidad alimentaria. Centro de Investigación em Alimentación y Desarrollo, **A.C. SENASICA-Mexico**. 2003.

MOLLERI, G.S.F. ; BONETTI, J . Caracterização morfo-sedimentar da Baía Sul/SC com base em um sistema de informações geográficas. **Revista Discente Expressões Geográficas**. Florianópolis – SC, nº02, p. 175, 2006.

MURRAY et al., Microbiologia Medica. 4 Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p.220-223, 2004.

NAVARRO J. M., LABARTAB, U, M. J. FERNÁNDEZ-REIRIZB, A. VELASCOA Feeding behavior and differential absorption of biochemical components by the infaunal bivalve *Mulinia edulis* and the epibenthic *Mytilus chilensis* in response to changes in food regimes, **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, V. 287, P. 13-35, 2003.

NCCLS- Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests**. 8ªEd. Vol 3. nº1, 2003.

NOVAIS, C., COQUE, T., FERREIRA, H., SOUZA, C., PEIXE, L. Environmental contamination with vancomycin resistant enterococci from hospital sewage in Portugal, **Appl Environ Microbiol.** v.71, p. 3364-3369, 2005.

OLIVEIRA, A.J.F.C., PINHATA, J.M.W. Antimicrobial resistance and species compositions of *Enterococcus* sp isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil, **Water Research**, v. 42, p. 2242-2250, 2008.

OLIVEIRA NETO, F.M. Síntese informativa da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) no estado de Santa Catarina em 2006 – Epagri/Cedap. Florianópolis, 2007. [online] **disponível na internet** via <http://www.epagri.rct-sc.br/> Capturado em 15/11/07.

OLIVEIRA NETO, F.M. Síntese informativa da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) no estado de Santa Catarina em 2007 – Epagri/Cedap. Florianópolis, 2009. [online] **disponível na internet** via <http://www.epagri.rct-sc.br/> Capturado em 15/05/09.

PEREIRA, M.A., NUNES, M.M., NUERMBERG, L., SCHULZ, D., BATISTA, C.R.V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianopolis-Brazil, **Brazilian Journal of Microbiology**, 37: 159-163, 2006.

PINTO, B., PIEROTTI, G., REALI, D. Characterization of “faecal streptococci” as indicators of faecal pollution and distribution in the environment, **Letters in Applied Microbiology**, v.29, p.259-263, 1999.

PITTA, M.S. Tendência actual del estreptococo como indicador de contaminação fecal. **Rev. Cubana Hig. Epidemiol** , v.1, n.40, p.38-43, 2002.

POTASMAN I., PAZ, A. & ODEH, M. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. **Clin Infect Dis**; v.35, p. 921-928, 2002.

RAHIMI, F., TALEBI, M., SAIFI, M., POURSHAFIE, M.R. Distribution of Enterococcal Species and Detection of Vancomycin Resistance Genes by Multiplex PCR in Tehran Sewage, **Iranian Biomedical Journal** v.11, p. 161-167, 2007.

RAMOS, R. J. Monitoramento bacteriológico de águas do mar e ostras (*Crassostrea Gigas*) em áreas de cultivo na baía Sul da Ilha de Santa Catarina. 2007. 86 p. **Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, 2007.

RIBEIRO, E.N. Avaliação de indicadores microbianos de balneabilidade em ambientes costeiros de Vitória/ES. 2002. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)** Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2002.

RODGERS, C.J. The NSW. Shellfish Quality Assurance Program: an operational review. Final Report, 123p, 2001

ROSSI, F., ANDREAZZI, D.B. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. **Editora Atheneu**, São Paulo, p. 27-63, 2005.

SAPKOTA, A. et al. Aquaculture practices and potencial human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environment International**, v. 34, p. 1215-1226, 2008.

SCOGING, A.C. Illness associated with seafood. **Can Med Assoc Journal**, v.147, p. 1344 - 47, 2003.

SOLIC, M.; KRSTULOVIC, N.; JOZIC, S.; CURAC, D. The rate of concentration of faecal coliforms in shellfish under different environmental conditions. **Environment International**, 25(8): 991-1000, 1999

SECRETARIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO URBANO E MEIO AMBIENTE - Bacias Hidrográficas do Estado de Santa Catarina - **Diagnóstico Geral**. Florianópolis, 1997.

SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA – SEAP/PR – Programa Nacional de Controle Higiênico-sanitário de Moluscos Bivalves. [on-line] **disponível na internet** via [http://200.198.202.145/seap/didaq/htlm2/prog\\_nac\\_controle\\_higienico\(MoluscosBivalves\).html](http://200.198.202.145/seap/didaq/htlm2/prog_nac_controle_higienico(MoluscosBivalves).html). Capturado em 04/05/2009.

SILVA, et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3º Ed. São Paulo: **Livraria Varela**, 2007.

SILVA, L.F. Identificação de sub-ambientes na Baía Sul (SC) com base na análise de variáveis oceanográfico-sedimentares. 2002. **Dissertação (Mestrado em Geografia)** Universidade Federal do Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SILVEIRA JR., N. ALMEIDA, M. C. C., BROGNOLI, F. F., COUTO, F. R., FISCHER, C. E. Classificação de águas de cultivo de moluscos marinhos quanto a

coliformes termotolerantes a 45°C na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, **XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar**, Florianópolis, 2007.

SILVEIRA JR.N, COUTO, F.R., DE BEM,M.M, BROGNOLI, F.F. Variação da salinidade superficial do mar na Baía sul da ilha de Santa Catarina. In: IV **Simposio Brasileiro de Oceanografia**, São Paulo, 2008b.

SILVEIRA JR., N.; FISCHER, C.E.; BROGNOLI, COUTO, F.R, C. E.; ALMEIDA, M.C.C.; WOLFF, R.A. Temperatura superficial do mar na Baía sul da ilha de Santa Catarina, Brasil: 2001 a 2007. In: III **Congresso Brasileiro de Oceanografia**, Fortaleza, 2008a.

SOUZA FILHO, J. et al. Custo de produção da ostra cultivada. Florianópolis: Instituto Cepa/SC. **Cadernos de indicadores agrícolas**, 23 p., 2003.

STROMPFOVA, V. et al. *Enterococcus faecium* EK-13-an enterocin producing strain with probiotic character and its effect in piglets. **Anaerobe**, v. 12, p. 242-248, 2006.

SUPLICY,F.M., SCHIMMIT, J.F., MOLTSTCHANIWSKYJ, N.A. & FERREIRA, J.F. Modelling of filter-feeding behavior on the brown mussel *Perna perna* (L.)exposed to natural variation of seston availability in Santa Catarina, Brazil. **Journal of Shellfish Research**, v.22, p. 125-134, 2003.

TEPLITSKI, M., WRIGHT, A.C. & LORCA, G. Bacterial approaches for controlling shellfish-associated pathogens. **Current opinion on Biotechnology**, v.20, p.1-6, 2009.

U.S. Environmental Protection Agency. Ambient Water Quality Criteria for Bactéria – USEPA, 1986. EPA-440/5-84-002, In Office of Water Regulations and Standarts, US **Environmental Protection Agency**, Washington, D.C, 1986.

WALACE, B.J., GUZEWICH, J.J., CAMBRIDGE, M., et al. Sea-food associated disease outbreaks in New York, 1980-1994. **Am J Prev Med**, v.17, p. 48-54, 1999.

YANG, H.S., ZHANG, T., WANG, J., HE, Y.C., ZHANG, F.S., Seasonal variation in metabolism of cultured Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Sanggou Bay, China. **Aquaculture**, v.253,, p. 322-333, 2006.

YOUNGER A.D., LEE R.J. ,LEES D.N. Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas in England and Wales - rationale and approach. Proceedings of the 4th International **Conference on Molluscan Shellfish Safety**. Santiago del Compostella, Spain, 4th - 8th June, 2002.